

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961

Série U n° 348

Recherches sur les Copalchis, drogues hypoglycémiantes

et en particulier sur
le *Coutarea latiflora*, D.C. (Rubiaceae)

THÈSE

pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 13 décembre 1961

par

Monique BASTIEN

Pharmacien

Jury : MM. R. PARIS, *Président*

R. CAVIER, *Professeur*

P. DELAVEAU, *Maître de conférences*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961

Série U n° 348

Recherches sur les Copalchis,
drogues hypoglycémiantes
et en particulier sur
le *Coutarea latiflora*, D.C. (Rubiaceae)

THÈSE

pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 13 décembre 1961

par

Monique BASTIEN

Pharmacien

Jury : MM. R. PARIS, *Président*
R. CAVIER, *Professeur*
P. DELAVEAU, *Maître de conférences*



PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

- MM. G. VALETTE, Doyen, *, ☉ C.
M.-M. JANOT, Assesseur, *, ☉ C.
G. CUVIER, Secrétaire Général, *, ☉ I.
L. JEANDEL, Secrétaire Général-Adjoint, ☉ I.
Mmes S. CERTAIN, Secrétaire, ☉ I.
M.-L. ESPINASSE, Secrétaire, ☉ I.

DOYEN HONORAIRE

- M. René FABRE, C *, ☉ C, Membre de l'Institut.

PROFESSEURS HONORAIRES

- MM. René FABRE, C *, ☉ C, Membre de l'Institut.
DELEPINE, C *, ☉ C, Membre de l'Institut.
LAUNOY, O *, ☉ I.
FLEURY, O *, ☉ I.
MASCRE, O *, ☉ C.
PICON, O *, ☉ I.
BEDEL, *, ☉ I.

PROFESSEURS

- MM. M.-M. JANOT, *, ☉ C - Pharmacie galénique (T.).
G. VALETTE, *, ☉ C - Pharmacodynamie (T.).
R. PARIS, *, ☉ I - Histoire naturelle des médicaments
simples d'origine végétale (T.).
M. GUILLOT, *, ☉ I - Physique (T.).
J. GAUTIER, *, ☉ I - Chimie organique (T.).
Mlle S. LAMBIN, *, ☉ I - Microbiologie (T.).
MM. Y. RAOUL, *, ☉ I - Zoologie appliquée (T.).
J. COURTOIS, *, ☉ I - Chimie biologique (T.).

- MM. L. DOMANGE, *, ☉ 1 - Chimie minérale (T.).
 P. CRETE, *, ☉ I - Botanique (T.).
 R. TRUHAUT, O *, ☉ I - Toxicologie et Hygiène industrielle (T.).
 A. MORETTE, *, ☉ I - Hydrologie (T.).
 R. CAVIER, ☉ I - Parasitologie (T.).
 A. QUEVAUVILLER, ☉ I - Hygiène et Education sanitaire (T.).
 R. MOREAU, *, ☉ I - Pharmacie chimique (T.).
 J. GUY, ☉ I - Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.).
 A. GERMAN, ☉ I - Virologie et sérologie (T.P.).
 M. PIETTE, ☉ I - Biologie sanguine (T.P.).
 P. MALANGEAU, ☉ A - Chimie analytique (T.).
 M. GIRARD, ☉ I - Chimie appliquée à l'expertise (T.).
 G. DILLEMANN - Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.).
 G. DEYSSON, ☉ I - Professeur sans chaire.
 J. FLAHAUT, ☉ A - Professeur sans chaire.
 J. RENAULT, ☉ A - Professeur sans chaire.
 A. LE HIR, ☉ A - Professeur sans chaire.
 C. BOUDENE - Professeur sans chaire.

MAITRES DE CONFERENCES

- MM. P. LARUELLE - Physique.
 G. LE MOAN - Toxicologie.
 P. ROSSIGNOL - Pharmacodynamie.
 H. RENAULT, ☉ A - Pharmacie chimique.
 G. PAOLETTI - Radio-isotopes, Applications à la Biologie et à la Pharmacie.
 A. MANGEOT, ☉ I - Chimie analytique.
 P. DELAVEAU - Biologie végétale.
 P. REYNAUD - Sciences physico-chimiques.
 A. DESVIGNES, ☉ A - Microbiologie.
 F. PERCHERON - Biochimie.
 J. SVEL - Sciences naturelles.
 J. BORY - Sciences naturelles.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

- MM. P. BINET - Biologie animale.
P. CORRIEZ, ☼ I - Physique.
J. DUCHENNE - Microbiologie.
J. GARDENT - Chimie analytique (1^{re} année).
P. GESTEAU, ✱, ☼ I - Physique biologique.
J. HARISPE, ☼ I - Chimie générale et pharmaceutique.
J. HENRY - Chimie (4^e année).
M. LECLERC, ☼ A - Chimie biologique.
R. LELUC - Microbiologie.
M. LEMONNIER - Chimie analytique (2^e et 3^e années).
Mlle S. LONGUEVALLE, ☼ I - Service des examens de chimie.
MM. P. PELLERIN - Chimie analytique (2^e et 3^e années).
P. POUILLAIN - Hématologie.
Mme M. ROBERT - Sérologie.
Mlle A. ROLLEN, ✱, ☼ A - Biologie végétale.
N... - Pharmacie galénique industrielle.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

- M. A. CAVE - Chef de travaux de pharmacotechnie galénique.
Mlle H. MORIN, ☼ A - Chef de travaux de pharmacodynamie.
M. ROBBA - Chef de travaux de pharmacotechnie chimique.

BIBLIOTHEQUE

- Mlles Y. RUYSEN, ✱, ☼ I - Conservateur, chargé de la Direction.
LAVAUD, ☼ I - Conservateur.
Mmes DESGRIPPES, ☼ I - Bibliothécaire.
KREHMER, ☼ I - Bibliothécaire.

A M. le Professeur R. PARIS

*Professeur de Matière Médicale à la Faculté de Pharmacie
de Paris, Chevalier de la Légion d'honneur*

Qui nous a fait le grand honneur de nous proposer ce sujet de travail, de diriger nos travaux et de présider le jury de cette thèse.

Témoignage de profond respect et de bien sincère reconnaissance.

A M. le Professeur R. CAVIER

Professeur de Parasitologie à la Faculté de Pharmacie de Paris

Qui a accepté de juger ce travail.

Témoignage de respectueuse gratitude.

A Monsieur P. DELAVEAU

Maître de Conférences

Qui s'est intéressé à ce travail.

Avec mes sentiments reconnaissants.

A MES PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

Témoignage de ma profonde affection.

PLAN DU TRAVAIL

	Pages
INTRODUCTION	13
HISTORIQUE	17
PREMIERE PARTIE : Etude du <i>Coutarea latiflora</i> , D.C. .	25
ETUDE BOTANIQUE	27
Chapitre I. — Le genre <i>Coutarea</i> et ses différentes espèces	27
Chapitre II. — Travaux personnels	36
1) Etude morphologique	36
2) Etude anatomique	39
ETUDE CHIMIQUE	43
Chapitre I. — Travaux antérieurs sur <i>Coutarea latiflora</i> , D.C.	43
Chapitre II. — Travaux personnels : Essais préliminaires	47
Chapitre III. — Séparation des substances phénoliques . . .	55
Chapitre IV. — Etude des substances isolées	68
— Substance I.	68
— Substance II et substance III	80
ETUDE PHARMACOLOGIQUE	84
Chapitre I. — Travaux antérieurs sur <i>Coutarea latiflora</i> , D.C.	84
Chapitre II. — Travaux personnels	87
— Toxicité aiguë chez la Souris	87
— Pouvoir hypoglycémiant chez le Lapin	88
— Pouvoir hypothermisant chez le Lapin	96

DEUXIEME PARTIE : Etude du <i>Croton niveus</i> , Jacq.....	101
ETUDE BOTANIQUE	103
Chapitre I. — Le genre <i>Croton</i> et l'espèce <i>Croton niveus</i> , Jacq.	103
Chapitre II. — Travaux personnels	107
1) Etude morphologique	107
2) Etude anatomique	108
ETUDE CHIMIQUE	115
Chapitre I. — Travaux antérieurs sur les Copalchis appartenant au genre <i>Croton</i>	115
Chapitre II. — Travaux personnels sur <i>Croton niveus</i> , Jacq. .	117
1) Ecorces	117
2) Feuilles	125
ETUDE PHARMACOLOGIQUE	128
Chapitre I — Travaux antérieurs sur <i>Croton niveus</i> , Jacq. .	128
Chapitre II. — Travaux personnels sur <i>Croton niveus</i> , Jacq. .	130
— Toxicité aiguë chez la Souris	130
— Action sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin .	130
— Pouvoir hypothermisant chez le Lapin	134
TROISIEME PARTIE : Etude de l' <i>Exostemma caribaeum</i> , Roem et Schult	135
ETUDE BOTANIQUE	137
Chapitre I. — Le genre <i>Exostemma</i> et l'espèce <i>Exostemma caribaeum</i>	137
Chapitre II. — Travaux personnels	142
1) Etude morphologique	142
2) Etude anatomique	142
ETUDE CHIMIQUE	145
Chapitre I. — Travaux antérieurs sur les <i>Exostemma</i>	145
Chapitre II. — Travaux personnels sur les écorces d' <i>Exostemma caribaeum</i> , Roem. et Schult.	146
ETUDE PHARMACOLOGIQUE	148
Travaux antérieurs	148
CONCLUSIONS GENERALES	149
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	153

INTRODUCTION

La recherche des hypoglycémiants dans le règne végétal suscite, à l'heure actuelle, beaucoup d'intérêt. On espère y découvrir de nouveaux succédanés d'insuline agissant par voie buccale, peu toxiques, à activité prolongée.

En médecine populaire, beaucoup de végétaux sont réputés actifs sur le diabète, citons dans les espèces indigènes : l'Ail, la Bardane, la Myrtille, le Noyer, l'Olivier, l'Orge, la Sauge, mais sans qu'en aient été isolés de principes actifs et qu'il s'agisse d'autre chose que d'une médication adjuvante. La galéguine (iso-amylène guanidine) du Galega de la région méditerranéenne est active mais trop toxique pour les emplois thérapeutiques, il en est de même des substances isolées des graines de *Blighia sapida*, Benth. et Hook., de la Jamaïque : les hypoglycines (13).

Au Laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris, quelques recherches ont déjà été entreprises sur des drogues réputées hypoglycémiantes : la Pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*, G. Don (60), *Zygophyllum cornutum*, Cosson (61), *Lagerstroemia speciosa*, Pers. *Scoparia dulcis* L. Ayant pu disposer d'échantillons d'écorces de Copalchis d'Amérique centrale dont certains sont employés comme antidiabétiques, nous en avons entrepris l'étude.

Sous ce nom indien de Copalchi, sont confondues plusieurs espèces appartenant aux Euphorbiacées (notamment *Croton niveus*, Jacq.) et aux Rubiacées (*Coutarea latiflora*, D.C. et *Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult.), aussi, un problème d'identification botanique se posait-il en dehors des recherches chimiques et de l'essai physiologique.

Avant d'entreprendre l'exposé de ce travail, c'est avec reconnaissance que je prie mon Maître, M. le Professeur R. PARIS,

qui m'a accueillie au Laboratoire de Matière médicale dès l'obtention de mon diplôme de Pharmacien, de bien vouloir accepter mes très sincères remerciements et le témoignage de mon affection respectueuse. Sa grande expérience scientifique et sa sollicitude constante, qui s'est étendue au delà du cadre de cette thèse, m'ont permis de poursuivre ces recherches. Je le prie d'agréer l'expression de ma gratitude pour la formation professionnelle qu'il m'a donnée, et pour le très grand honneur qu'il me fait, en présidant le jury de cette thèse.

J'assure également de ma respectueuse reconnaissance, mon Maître dans les Hôpitaux, M. le Professeur R. CAVIER, qui s'est fait mon interprète auprès de M. le Professeur R. PARIS, lors de mon entrée au Laboratoire de Matière médicale, et a accepté de juger ce travail; qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mon affectueuse gratitude.

J'exprime également mes bien sincères remerciements à M. P. DELAVEAU, Maître de conférences, pour l'intérêt suivi dont il a entouré cette étude, qui m'a obligeamment conseillée et a bien voulu faire partie du jury de cette thèse.

Je ne saurais oublier l'aide bienveillante de M. le Professeur G. DILLEMANN, dont l'érudition en Botanique m'a permis d'élucider un problème taxinomique délicat. Qu'il reçoive mes sincères et très respectueux remerciements.

Je dirai aussi à Mme MOYSE MIGNON, Assistante de la Chaire de Matière médicale, ma gratitude et ma respectueuse amitié pour son aide inlassable tout au long de ce travail et dans sa rédaction. Son expérience, dont elle m'a fait bénéficier sans compter, et son soutien constant m'ont été très précieux.

Mon respect et ma reconnaissance sont acquis à M. le Docteur WEITZ, Assistant honoraire de la Chaire de Matière médicale pour son aide bienveillante et la solide expérience dont il m'a fait profiter dans le domaine de la bibliographie.

Ma profonde gratitude va aussi à Mme GODFRAIN, Pharmacien, et à M. DELQUÉ, Directeur général des Laboratoires de Plantes tropicales, qui m'ont fourni les échantillons nécessaires et ont bien voulu prendre entièrement à leur charge l'impression de cette thèse.

J'assure encore de ma vive reconnaissance, ceux qui, au Laboratoire de Matière médicale et au Laboratoire national de la Santé publique m'ont fréquemment prêté leur concours : mon camarade et ami A. STAMBOULI, Docteur en Pharmacie, Mme POITOUX si souvent mise à contribution, M. DANGEARD, Aide de Laboratoire spécialisé de Matière médicale, dont l'aide efficace m'a permis de mener à bien nombre d'opérations longues et délicates,

Mlle DE LAVARDE, Pharmacien et Mme PETIT pour les essais pharmacodynamiques.

Je suis aussi heureuse d'exprimer à tous mes camarades de Laboratoire connus au cours de ces années mon amicale sympathie.

Je remercie, enfin, tous ceux qui m'ont apporté leur concours dans certaines déterminations analytiques, effectuées dans les Laboratoires des Professeurs R. MOREAU et J. GUY.

HISTORIQUE

Les premiers « Copalchis », parvenus en Europe au début du XIX^e siècle, appartenaient au genre *Croton*, de la famille des Euphorbiacées.

Divers auteurs, entre 1825 et 1830, font mention de ces écorces de « Copalchi », généralement d'origine mexicaine. C'est ainsi que MERCADIEU (55), en 1825, publie l'analyse d'écorces amères du Mexique connues dans ce pays sous le nom de « Copalchi » ou « Cortex amara ». Un échantillon est montré à HUMBOLDT qui ne peut donner que des probabilités sur l'origine botanique : vraisemblablement *Croton suberosus*, H.B.K., découvert par HUMBOLDT et BONPLAND (29) au Mexique, au voisinage des côtes, au nord d'Acapulco.

L'année suivante, en 1826, BRANDES (8) étudie des écorces fébrifuges du Mexique parvenues en Allemagne, grâce au Ministre Von ALSTENSTEIN, sous le nom de « Copalcke ». Ces écorces ont une saveur aromatique mais faiblement amère analogue à celle de la « Cascarille » (*Croton eluteria*, Benn.); celle-ci était déjà connue au XVII^e siècle, par l'intermédiaire des boucaniers, comme tonique et fébrifuge (12 bis). D'après BRANDES, les écorces examinées seraient peut-être fournies par *Croton discolor*, H.B.K. et diffèreraient donc du « Copalchi » de MERCADIEU. BRANDES note également que le « Copalcke » du Mexique est tenu par les uns pour un *Croton* et par d'autres pour un *Portlandia* (Rubiaceae).

Au cours de l'année 1827 furent mis en vente à Hambourg, d'après Von BERGEN et Von SANTEN (7), des lots d'écorces de « China » dit « Copalchi » et de « Copalcke bark ». Un examen approfondi de ces échantillons, qui auraient pu être confondus avec les écorces de Quinquina, les fait rattacher plutôt au genre *Croton*, comme la « Cascarille » dont ils sont proches. Les auteurs observent que les écorces dénommées « Cascarilla de la Trinidad

de Cuba » et parvenues à Hambourg, en 1817, étaient semblables à celles des derniers lots.

La même année GOEBEL et KUNZE (17) notent que ces « Copalchis » ne sont pas identifiés avec certitude mais qu'il s'agirait peut-être d'écorces de *Croton suberosus*, H.B.K.; quant à la supposition que le « Copalchi » est un *Portlandia*, elle tient au fait que des écorces appartenant à ce dernier genre sont aussi employées comme fébrifuges et désignées sous le nom de « Quina ».

Au cours d'un voyage au Mexique, SCHIEDE (70) note, dans deux lettres écrites en août 1828 et mars 1829 à Plan del Rio près de Jalapa et entre Laguna verde et Actopan, la présence d'un petit arbre dont les écorces, appelées « Quina blanca » sont utilisées comme fébrifuges et sont analogues aux écorces de « Cascarille ». Les écorces de ce « Quina blanca », rapporte SCHLECHTENDAL (70 bis) en 1830, sont aussi connues dans les officines de Jalapa sous le nom de « Copalche » et proviennent de *Croton pseudochina*, Schlecht. (= *Croton niveus*, Jacq.) dont il donne la diagnose.

Dans son *Histoire naturelle des drogues simples*, GUIBOUT (21) en 1840 note que le « Copalchi » ou « Copalche » du Mexique est représenté par les écorces de *Croton pseudochina*, Schlecht. décrites ensuite par NEES von ESENBECK (57) en 1833. Les écorces étudiées par MERCADIEU sont, d'après GUIBOUT, bien différentes de celles du *Croton pseudochina*, Schlecht.

Peu après, HAYNE (24), par une étude botanique accompagnée d'une remarquable iconographie, précise les différences entre le *Croton eluteria* (Cascarille) et le *Croton pseudochina*.

En 1849, STARK (73) annonce qu'il a reçu du Chili, sous le nom de « Natri », une écorce amère très employée par les indigènes comme fébrifuge, à l'égal de l'écorce « péruvienne » de Quinquina. Cette écorce, selon son ami HOWARD, semble analogue à celle importée de Santa Cruz sous le nom de « Chiquique » et identique à l'écorce de « Copalchi » de GOEBEL. STARK note que l'absence de fleurs et de fruits l'empêche de rapporter les échantillons à une espèce bien définie, mais il lui est permis cependant d'affirmer qu'elles appartiennent au genre *Croton*.

PEREIRA (65) résume les recherches précédentes et décrit les deux sortes de « Copalchi » qu'il a rencontrées sur le marché anglais :

1 - Le « Copalche en tuyau » présenté comme une nouvelle sorte de Quinquina. Il serait identique à l'échantillon de GOEBEL et KUNZE. Il ressemble beaucoup à la véritable « Cascarille » des Bahamas, mais s'en distingue par la longueur des tuyaux, la

couleur des écorces et l'absence de sillons transversaux. Des écorces de cette sorte, selon HOWARD (27) auraient été importées de Punta Arenas dans le golfe de Nicoya et proviendraient du Costa Rica.

2 - Le « Copalche subéreux » appelé « Copalche » ou « Chiquique », en tuyaux plus importants et plus grossiers, de saveur très amère. Ce serait peut-être le produit de *Croton suberosus*. C'est l'écorce, qui selon STARK, est appelée « Natri » au Chili et « Chiquique » à la Santa Cruz.

En 1867 FLÜCKIGER (16) confirme que l'écorce de « Copalchi » proche de la « Cascarille », appartient au *Croton pseudochina*. La même année, à l'Exposition universelle de Paris figure, à la République de San Salvador, l'écorce de « Copalchi » (*Croton pseudochina*) comme fébrifuge d'Amérique centrale. C'est ce que mentionnent également SOUBEIRAN et DELONDRE (71).

Mais l'année suivante, apparaît en Europe, toujours sous le nom de « Copalchi », une écorce différente de celles des *Croton*; alors que ceux-ci, provenant principalement des régions orientales du Mexique, sont exportés par la Vera Cruz, la nouvelle drogue est originaire des côtes occidentales du Mexique; il s'agit de *Coutarea latiflora*, D.C., espèce créée en 1830 par DE CANDOLLE qui en avait noté le nom de « Copalchi » mais sans mentionner les propriétés de l'écorce. D'après HENKEL (26), les indigènes l'employent au même titre que le Quinquina. Cet auteur donne une description morphologique et anatomique de ces écorces, dont il note la saveur très amère.

MAUCH (52) peu après, publie une étude botanique et chimique des écorces de « Copalchi » qu'il rapporte au *Croton pseudochina* tout en notant qu'elles sont accompagnées d'autres écorces dites « Quina Tecamez » et « Quina Nova surinamensis ».

En 1885, MAISCH (47) énumère les différentes espèces qui constituent le « Copalchi » et donne leurs lieux de végétation. La drogue se présente comme une écorce amère généralement appelée « Campanillo » et constituée le plus fréquemment par *Croton niveus*, Jacq. (= *Croton pseudochina*, Schlecht.). Cette espèce pousse à Oaxaca, Plan del Rio, Tampico, Tehuantepec, entre Laguna verde et Actopan où elle est connue comme « Quina blanca ». D'après cet auteur, deux espèces voisines le *Croton reflexifolius*, H.B.K. qui pousse à Acapulco, Huasteca, Paso del Correo, sur la rivière Teculata et le *Croton suberosus*, H.B.K. dont l'écorce est plus amère, constituent également le « Copalchi ». Selon OLIVA, cité par MAISCH, le *Coutarea latiflora*, connu à Autlan comme « Campanillo » est le « Copalchi de Guadalajara » tandis que *Hedwigia balsamifera*, Swartz (Burséracée) est

aussi appelé, selon JIMENEZ (d'après MAISCH) « Copalchi » à Orizaba.

La thèse de AREVALO (1), présentée à Mexico en 1887 et consacrée à l'écorce de Copalchi, rapporte cette drogue au *Croton pseudochina* du Mexique.

Deux ans plus tard, LICHINGER (44) rappelle les travaux précédents et donne encore pour « Copalchi » : *Croton draco*, Schlecht. (« Copalchi de Huasteca »); *Croton hibiscifolius*, D.C. (« Copalchi de Vera Cruz »); *Coutarea speciosa*, Aub. (= *Portlandia hexandra*, Jacq.) (« Copalchi de Oaxaca »).

Il faut noter que le *Portlandia hexandra*, Jacq. est appelé « Copalchi » également dans la Flore mexicaine de SESSÉ et MOCINO de 1894 (56).

En 1898 HARTWICH (22) cite comme falsification du Quinquina le *Croton niveus*, Jacq.; pour GERTH van WIJK (18) le *Croton niveus* constitue la véritable écorce de « Copalchi ».

Mais la question demeure complexe puisqu'en 1904, VILLASENOR (77) nomme l'*Exostemma caribaeum* « Copalchi de Jojutla » et qu'ARMENDARIS (2) traite des propriétés de la saponine du « Copalchi » provenant des écorces de *Coutarea latiflora*.

MARTINEZ DEL CAMPO (50), en 1906, cite aussi comme « Copalchi » l'*Exostemma caribaeum* dont il utilise les écorces dans le traitement du paludisme.

D'ailleurs quelques années plus tard, TERRES (75) et LANDA (41) remarquent que le terme de « Copalchi » désigne non seulement quelques Euphorbiacées comme l'indique la Pharmacopée mexicaine, mais également deux Rubiacées : le *Coutarea latiflora*, D.C. ou « Copalchi de Jojutla » dont ils soulignent l'action bénéfique sur le diabète et l'*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. ou « Quina falsa de Michoacan ».

STANDLEY (72), en 1823, dans une étude de la flore mexicaine, indique que le *Croton niveus* est appelé « Copalchi » à la Vera Cruz, Oaxaca, Costa Rica, San Salvador et Nicaragua; le *Croton reflexifolius* aurait les mêmes appellations en différents endroits du Mexique, mais deux Rubiacées y sont aussi appelées « Copalchi », le *Coutarea latiflora* à Oaxaca et le *Coutarea pterosperma*, Wats. à Colima.

A la Pharmacopée mexicaine (5^e édition, 1925), sous le nom de « Copalchi » sont inscrits :

Coutarea latiflora, D.C. (Rubiacée) d'une part;

Croton niveus, Jacq. « Copalchi delgado »,

Croton suberosus, H.B.K « Copalchi gordo »,

Croton reflexifolius, H.B.K. (Euphorbiacées) d'autre part.

En 1929 ILLIS (30) mentionne que le *Croton niveus* est employé sous le nom de « Copalchi » comme falsification du Quinquina et qu'il est aussi mélangé à la « Cascarille » et à « l'Angusture ».

Selon BULLOCK (9) en 1935, le nom vernaculaire de « Copalchi » est plutôt appliqué au *Portlandia pterosperma*, Wats. (= *Coutarea pterosperma*, Standley) qu'au *Coutarea latiflora*, Standley qui est appelé « Quina » ou « faux Quina ».

Dans sa Flore du Mexique, MARTINEZ (48) distingue trois sortes de « Copalchi » :

« Copalchi blanco » (*Croton niveus*, Jacq.) Euphorbiacée.

« Copalchi de Jojutla » (*Coutarea latiflora*, D.C. et *Coutarea pterosperma* (S.-W.) Standley), Rubiacée.

« Copalchi de Michoacan » (*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult.), Rubiacée.

La même distinction est reprise en 1955 par KAIZER et GEYER (37) dont nous verrons plus loin les travaux, puis par KREBS et GRIESINGER en 1960 (40).

En résumé, c'est comme succédané des Quinquinas qu'ont été envoyées en Europe au XIX^e siècle les drogues appelées « Copalchi ». Elles peuvent être rapportées en majorité à *Croton niveus*, Jacq. (= *Croton pseudochina*, Schlecht.) Euphorbiacée, mais on trouve également, sous la même dénomination, des écorces de Rubiacées : *Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. et *Coutarea* (*Coutarea latiflora*, D.C. notamment).

D'après les différents auteurs, a été établi un tableau récapitulatif des différentes espèces fournissant les « Copalchis », avec leurs noms vernaculaires dans leurs pays d'origine ou sur les marchés.

Une carte géographique (Fig. 1) indique la zone de végétation des « Copalchis ».

Ce tableau montre bien la complexité du problème posé par l'étude des « Copalchis ». Etant donné les nombreuses synonymies, le seul nom vernaculaire ne donne qu'une indication sur l'origine botanique de la plante. Plus que jamais, est nécessaire ici, la présence d'un herbier aussi complet que possible pour l'identification botanique qui doit précéder toute étude chimique.

Noms vernaculaires

Lieux de végétation

<i>Croton niveus</i> , Jacq. <i>Croton pseudochina</i> , Schlecht Euphorbiacées.	Copalchi (67-72) Copalchi blanco (48) Copalchi delgado (1-67). Campanillo (47). Palo de Amizcle (1). Quina blanca (1-47-72) Quina (48) Vara blanca (72) Salvia de la Playa (72)	au Mexique (Vera Cruz, Oaxaca) à Costa Rica, au San Salvador, au Nicaragua, au Mexique. au Mexique (Vera-Cruz, Actopan). au Mexique (Oaxaca). au Mexique (Tamaulipas). en Colombie.	de Colima à Tamaulipas, Yucatan, Chiapas (Mexique), Cartagena (Colombie) (48-72).
<i>Croton reflexifolius</i> , H.B.K. Euphorbiacées.	Copalchi (72) Soliman prieto (72)	au Mexique. à Costa Rica. au Mexique (San Luis Potosi).	de Guerrero à Tamaulipas, Vera-Cruz, Acapulco, Huasteca, paso del Corro, Rio Teculata (Mexique), Colombie (72-47).
<i>Croton suberosus</i> , H.B.K. Euphorbiacées.	Copalchi gordo (67) Chiquique (65-73) Natri (65-73)	au Mexique. à Santa-Cruz. au Chili.	Acapulco, Guerrero (Mexique) (72).
<i>Croton Draco</i> , Schlecht. Euphorbiacées.	Copalchi de Huasteca (44)	au Mexique.	Mexique (44).
<i>Croton hibiscifolius</i> , Kunth. Euphorbiacées.	Copalchi de Vera Cruz (44)	au Mexique.	Nouvelle Grenade (44).
<i>Croton discolor</i> , Willd.	Copalchi (8)	au Mexique.	Vera-Cruz (8).

<i>Hedwigia balsamifera</i> , Sw. Burséracées.	Copalchi (47)	à Orizaba (Mexique).	
<i>Coutarea speciosa</i> , Aublet. Rubiacées.	Copalchi de Oaxaca (44)	au Mexique.	Mexique, Guyane (44).
<i>Coutarea pterosperma</i> (Wats.) Standley. Rubiacées.	Copalchi (48-72) Capalchi de Jojutla (48) Palo amargo (72) Copalquin (72). Caparche (72).	au Mexique (Colima). au Mexique. au Mexique (Sinaloa).	Sonora, de Chihuahua à Colima, Guayamas (Mexique) (72).
<i>Coutarea latiflora</i> , D.C. Rubiacées.	Copalchi (72) Quina ou faux Quina (9-72) Copalchi de Jojutla (48) Copalchi de Guadalaajara (47). Quina de Michoacan (48) Campanillo (47-72) Palo amargo (72)	au Mexique (Oaxaca). au Mexique (Oaxaca, Guerrero). au Mexique. au Mexique (Jalisco, Oliva, Autlan). au Mexique (Sinaloa).	de Chihuahua à Guerrero, Oaxaca, Pueblo (Mexique), Guatemala (72).
<i>Erostemna caribacum</i> . Koen. et Schult. Rubiacées.	Copalchi de Michoacan (48) Sabac-ché (72) Faux Quina (72) Cuero de sapo (72) Lechesillo (72). Macaragua de costa (72) Cerrillo (72). Cera amarilla (72). Prince wood (72)	au Mexique. au Mexique (Yucatan, Maya). au Mexique (Ramirez). à Porto Rico. à Cuba. aux Bahamas.	de San Luis Potosi à Colima, Guerrero, Yucatan (Mexique). Sud de la Floride, Indes Occidentales, Amérique Centrale (72).

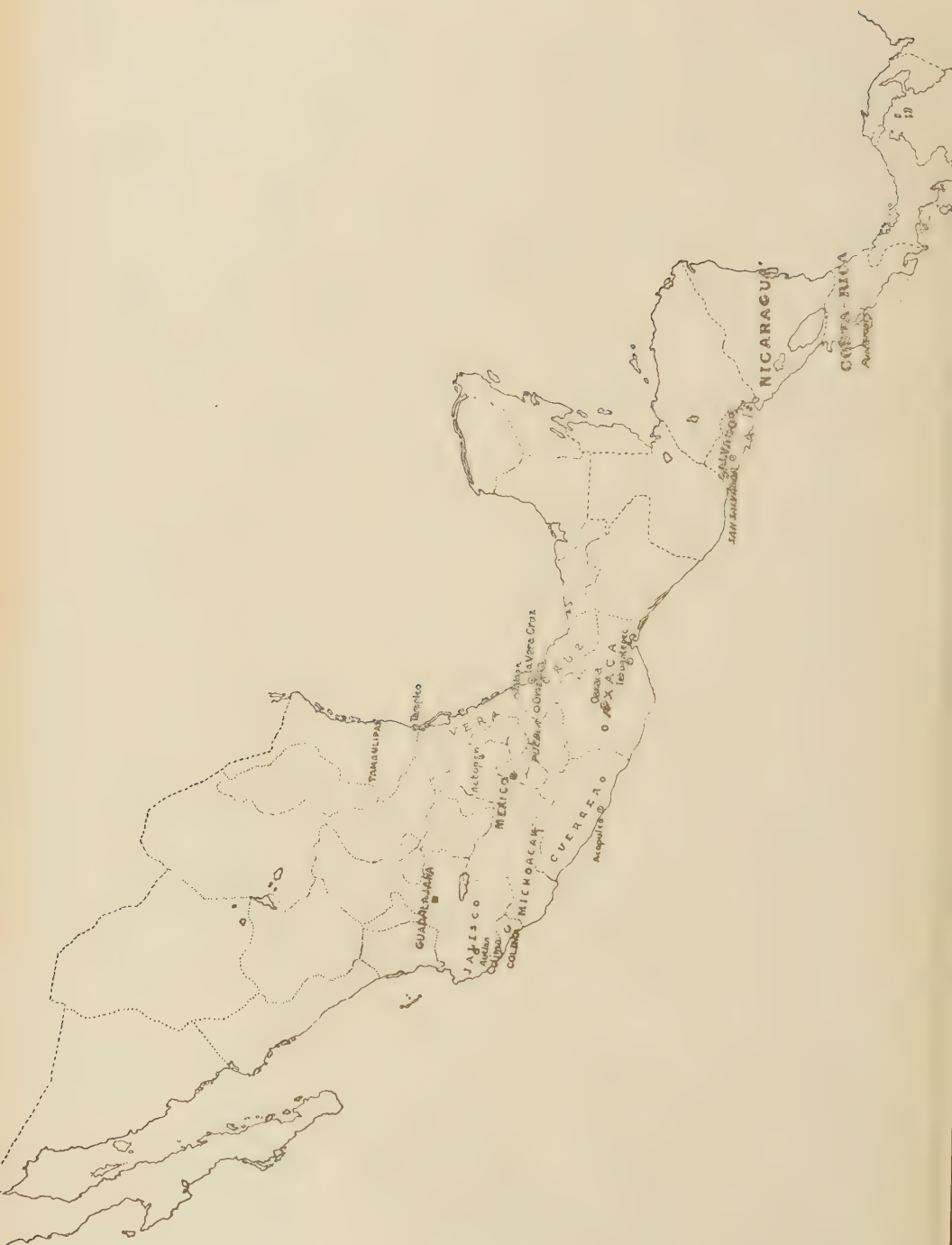


Fig. 1. — Zone de dispersion géographique des « Copalchis ».

PREMIERE PARTIE

ETUDE DU COUTAREA LATIFLORA, D.C.



ETUDE BOTANIQUE

CHAPITRE PREMIER

LE GENRE COUTAREA ET SES DIFFERENTES ESPECES

Le genre *Coutarea* a été créé par AUBLET (3) en 1775 pour un arbre de la Guyane dont il fait le *Coutarea speciosa*. C'est la même espèce qui avait été décrite en 1763 par JACQUIN (33) sous le nom de *Portlandia hexandra*.

Le *Coutarea speciosa* possède six étamines et l'espèce de JACQUIN est une exception dans le genre *Portlandia* qui a cinq étamines, et qui, nous le verrons plus loin, diffère des *Coutarea* par les caractères des fruits et des graines.

Voici la diagnose accompagnée d'une représentation (Fig. 2) que donne AUBLET pour le genre *Coutarea* :

Périanthe gamosépale, oblong, de forme conique, strié, sub-comprimé, portant à la base deux stipules opposées et droites, il se divise à son sommet en six ou sept lanières oblongues très étroites.

Corolle gamopétale, infondibuliforme; tube long, s'élargissant insensiblement, ventru, courbe, s'emboîtant autour d'un disque qui couronne l'ovaire; limbe divisé en six ou sept parties, les lobes sont courts, subarrondis, incurvés; la gorge est ample, ouverte.



Fig. 2. — *Coutarea speciosa*, Aublet. (Histoire des Plantes de la Guiane françoise, 1773, 1, 314, tabl. 122.)
(Réduction aux 4/7 de l'original)

Etamines. Filets, six ou sept le long du tube et insérés vers la base. Anthères très longues, linéaires, biloculaires, exsertes.

Pistil. Ovaire infère, aplati, adné au fond du calice, couronné par un disque. Style très long, stigmate capité, sillonné.

Péricarpe. Capsule couronnée par les restes du calice, marquée par un sillon longitudinal, obovée, aplatie, biloculaire, s'ouvrant en deux longitudinalement, chaque loge est polyspermée; deux valves déhiscentes par le haut.

Graines nombreuses, imbriquées, orbiculaires, plates, à marge largement ailée, membraneuse, fixées sur le bord des valves.

Les *Coutarea* se distinguent des *Portlandia* par le tube courbe de la corolle, la capsule aplatie, les graines plates à ailes circulaires marginales; les *Portlandia*, par contre, ont un tube droit, une capsule ovoïde non aplatie, des graines non ailées, déformées par pression réciproque.

A.-L. DE JUSSIEU redonne, en 1789 (36) et en 1820 (36 bis), la diagnose du genre *Coutarea* qui ne comprend toujours que l'espèce de AUBLET et note : « fleurs généralement par trois, deux bractéoles à la base des fleurs ».

A.-P. DE CANDOLLE dans le *Prodromus*, en 1830 (10), range le genre *Coutarea* dans la tribu des *Cinchonées*. Les *Coutarea* sont des arbres de l'Amérique tropicale à feuilles ovées, acuminées, brièvement pétiolées, stipulées, les stipules sont larges, à pointes courtes. Les fleurs groupées par trois sont axillaires ou terminales. Elles sont blanches.

Le genre *Coutarea* comprend alors cinq espèces :

Coutarea speciosa, Aub. (Guyane).

Coutarea campanilla, D.C. (Vénézuëla).

Coutarea mexicana, Zucc. et Mart. (Mexique).

Coutarea latiflora, Moc. et Sessé (Mexique).

Coutarea flavescens, Moc. et Sessé (Mexique).

Ces deux dernières espèces ont été décrites par DE CANDOLLE (10), d'après les dessins inédits de MOCINO et SESSÉ (*Flora mexicana Icones inedita*) (12).

La diagnose du *Coutarea latiflora* donnée par DE CANDOLLE est la suivante :

Pédicelle à une fleur, sans bractéole («... sub flore ebracteatitis »...), fleur aussi longue que large; habitat : Mexique où on l'appelle « Copalchi ». Pédicelles axillaires souvent par deux, corolle blanche, stigmate bifide, capsule petite, comprimée, à six côtes ornées de tubercules épars.



Fig. 3. — *Coutarea latiflora* D.C. — Calque du dessin de la Flore
mexicaine de Mocino et Sessé (1874, tabl. 458) (12)
(Réduction aux 4/7 de l'original)

A remarquer que l'auteur note l'absence de bractéoles pour le *Coutarea latiflora*.

ENDLICHER (13 bis), puis BENTHAM et HOOKER (6) dans leurs *Genera plantarum*, reprennent la diagnose du genre *Coutarea*. BENTHAM et HOOKER précisent : « ... fleurs grandes, terminales, solitaires ou en cyme de trois fleurs, brièvement pédicellées, belles, odorantes, *pourvues de bractées en alène, caduques...* »

BAILLON, dans l'Histoire des plantes (5), distingue surtout les *Coutarea* des *Portlandia* par leur corolle à tube courbe et gibbeux, leurs graines bordées par une petite aile circulaire.

C'est en 1874 qu'Alphonse DE CANDOLLE (12) fait paraître les calques des dessins de MOCINO et SESSÉ qui avaient servi à son père A.-P. DE CANDOLLE pour la description du *Coutarea latiflora* (10). Les bractéoles sont invisibles sur ces dessins (Fig. 3).

ENGLE et PRANTL (15), en 1897, n'apportent rien de nouveau sur la description et la classification systématique des *Coutarea*.

STANDLEY (72), en 1921 et 1926, reprend l'étude des *Coutarea* et intègre dans ce genre, sous le nom de *Coutarea pterosperma*, une autre espèce mexicaine, le *Portlandia pterosperma*, S.W. Il donne la diagnose suivante des *Coutarea* :

Arbres ou arbustes, feuilles pétiolées, grandes fleurs terminales ou axillaires, solitaires ou en cyme; calice à tube ovoïde, contourné; limbe de 5 à 8 lobes; corolle infundibuliforme, plus ou moins oblique, le tube est souvent courbe et renflé, le limbe de 5 à 8 lobes courts, pliés, imbriqués ou tordus; capsule plus ou moins subcomprimée, à 2 lobes, à déhiscence loculicide bivalvulaire, graines nombreuses, largement ailées.

Corolle à 6 lobes, calice à 6 lobes :

Corolle symétrique ou presque, tube non gibbeux, capsule légèrement comprimée, fleurs solitaires, étamines égales ou parfois plus courtes que la corolle.

— Pédicelle ébractéolé, calice à lobes de 6 à 10 mm de long, corolle à lobes de 6 à 10 mm de long, souvent d'une longueur égale à la moitié de celle du tube :

Coutarea latiflora (Sessé et Moc.), D.C.

— Pédicelle bractéolé, calice à lobes de 10 à 20 mm de long, corolle à lobes d'une longueur égale environ au quart de celle du tube. Capsule de 2 à 3 cm de long; corolle de 6 à 8 cm de long, feuilles largement ovales :

Coutarea pterosperma (= *Portlandia pterosperma*),
(S. Wats.) Standley.

En 1935, BULLOCK (9) reprend la classification systématique des *Coutarea* et des *Portlandia*, ce qui l'amène à créer le nouveau genre *Hintonia* auquel il rattache certains des *Coutarea* déjà décrits, en particulier les espèces mexicaines.

D'après l'auteur, le genre *Hintonia* (dédié à G.-B. HINTON) se distingue du genre *Coutarea* par les caractères de la fleur et du fruit. Les *Coutarea* ont une corolle à tube courbe, souvent gibbeux à la base, des étamines exsertes. Les *Hintonia* (ainsi que les *Portlandia*) ont un tube droit et des étamines incluses. La capsule des *Coutarea*, ovale, aplatie, est à déhiscence loculicide, celle des *Hintonia*, à peine aplatie, à déhiscence septicide. Les graines sont ailées chez les *Coutarea* et *Hintonia*, mais ascendantes chez les *Coutarea*, descendantes chez les *Hintonia*.

Nous résumons en un tableau les caractères différentiels des trois genres selon BULLOCK :

Portlandia :

Corolle à tube droit, non gibbeux à la base, préfloraison plissée valvaire.

Étamines incluses, filaments droits.

Capsule loculicide.

Graines non ailées.

Feuilles coriaces, brillantes.

Hintonia :

Corolle à tube droit, non gibbeux à la base, préfloraison plissée valvaire.

Étamines incluses, filaments droits.

Capsule septicide, à peine aplatie, sillonnée, lenticelles peu distinctes.

Graines ailées, descendantes.

Feuilles minces, herbacées, longuement pétiolées.

Coutarea :

Corolle à tube courbe, gibbeux à la base, préfloraison tordue.

Étamines exsertes, filaments arqués.

Capsule loculicide, ovale, aplatie.

Graines ailées, ascendantes.

Feuilles minces, herbacées.

Voici la diagnose détaillée du nouveau genre : *Hintonia*.

Calice à 6 lobes plus ou moins foliacés; étroitement lancéolés, aigus, caduques. Réceptacle conique à 6 ou 8 côtes. Corolle

infondibuliforme, non oblique, à préfloraison valvaire, mais les lobes à marge scarieuse sont imbriqués; corolle à 6 ou 8 lobes, 6 ou 8 côtes, les lobes sont largement triangulaires, à pointe obtusément apiculée et sont largement ouverts immédiatement après l'anthèse; les côtes et la base des lobes sont visiblement glabres ou quelquefois fortement velus, la base des lobes est en forme d'aile plus ou moins étroite. Les *filets staminaux* sont insérés à la base du tube de la corolle, ils sont droits, filiformes. Les *anthères* sont linéaires, basifixes, introrsées, à déhiscence longitudinale, pas ou à peine exsertes. Le disque annulaire est à peine visible. L'*ovaire* est à deux loges, à placenta subcharnu fixé sur la paroi; le *style* est filiforme à pointe légèrement bifide, il est de même taille que les étamines. La capsule ellipsoïde, très légèrement comprimée, lenticellée, à côtés apparentes est à déhiscence septicide. Les *graines* sont bisériées, pendantes, nombreuses, comprimées, à aile assez large, le testa est très finement ponctué. Arbrisseaux ou petits arbres. *Feuilles* largement elliptiques ou ovales ou étroites lancéolées, ou oblongues lancéolées, herbacées, pétiolées, d'abord plus ou moins pubescentes puis devenant glabres. *Fleurs* solitaires, blanches, de bel aspect, axillaires, pédicellées, le *pédicelle porte deux fines bractéoles ou bien il est ébractéolé*.

BULLOCK donne la clef des quatre espèces d'*Hintonia* :

H. latiflora et sa variété *leiantha*.

H. lumaeanana,

H. standleyana,

H. octomera.

— Fleurs hexamères :

Capsule de 2-2,5 cm de long, lobes du calice de 1 cm, corolle robustes, glabres; corolle verdâtre à l'état sec; feuilles plus ou moins elliptiques, environ 5-9 cm de long sur 2,5-5 cm de large; pédicelle à 2 petites bractéoles réduites :

. Capsule de 2-2,5 cm de long, lobes du calice de 1 cm, corolle de 6 cm environ de long, pédicelle de 1-1,5 cm de long.

1. — *H. latiflora*

. Capsule de 4 cm de long, lobes du calice de 2 cm de long ou plus; corolle de 8 cm de long, pédicelle de 2 cm de long ou plus.

1. — *H. latiflora* variété *leiantha*

. Capsule peu distinctement lenticellée, relativement petite, environ 1-1,5 cm de long, corolle jaunâtre à l'état sec.

. Feuilles étroites-lancéolées ou oblongues-lancéolées, 10 à 12 cm de long, 2,5 cm de large; corolle de 11 cm de long; anthères 1,5 cm de long; capsule à 6 côtes robustes; pédicelle à deux bractéoles.

2. — *H. lumaeana*

. Feuilles elliptiques ou ovales 4-7 cm de long, 2-4 cm de large; corolle de 6 cm de long; anthères de 3 cm de long; capsule à 6 côtes, fines, pédicelle ébractéolé.

3. — *H. standleyana*

— Fleurs octomères :

. Pédicelle ébractéolé; feuilles plus ou moins elliptiques, relativement petites, environ 2,5 cm de long et 1,5 cm de large.

4. — *H. octomera*

D'après cet auteur, l'espèce *Hintonia latiflora* Bullock est identique au *Coutarea latiflora*, Sessé et Mocino mais non au *Coutarea latiflora* décrit par STANDLEY; de ce dernier il fait l'*Hintonia standleyana* à fruits plus petits, à lenticelles peu distinctes, à pédicelle sans bractéoles.

L'*Hintonia latiflora*, Bullock est encore identique au *Portlandia pterosperma*, S. Watson, c'est-à-dire au *Coutarea pterosperma*, Standley, espèce à fruits relativement gros, à lenticelles apparentes et à deux bractéoles. Celles-ci, toujours d'après l'hypothèse de BULLOCK, auraient été négligées par SESSÉ et MOCINO dans le dessin qui servit à DE CANDOLLE pour sa diagnose dans laquelle cet auteur remarque leur absence. La variété *leiantha* de l'*H. latiflora*, créée par BULLOCK, a des fleurs et des fruits beaucoup plus grands.

On a donc, d'après BULLOCK, les synonymies suivantes :

Hintonia latiflora, Bullock = *Coutarea latiflora*, Sessé et Mocino = *Portlandia pterosperma*, S. Watson = *Coutarea pterosperma*, Standley.

Hintonia standleyana, Bullock = *Coutarea latiflora*, D.C. sec. Standley.

Tous les *Hintonia* sont originaires du Mexique sauf *H. lumaeana* (Baill.) Bullock du Guatemala. *H. octomera* (Hemsl.) Bullock est mexicain mais localisé au Yucatan et aux îles Cozumel.

D'après BULLOCK, en raison de la séparation du genre *Hintonia*, une seule espèce de *Coutarea* existe en Amérique centrale, le *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum., le *Coutarea mexicana*, Zucc. et Mart. ayant été transféré dans le genre *Portlandia* par HEMSLEY.

Toujours selon BULLOCK, c'est l'écorce d'*H. latiflora* (Sessé et Mocino) ex-D.C. Bullock qui fournit le « Copalchi », celle d'*H. standleyana* ayant plutôt le nom vernaculaire de « Quina ».

Cependant l'*Index kewensis* (qui, avec ses suppléments, mentionne 17 espèces américaines de *Coutarea* dont 4 mexicaines) donne les synonymies suivantes :

Hintonia latiflora (Sessé et Moc. ex-D.C.) Bullock = *Coutarea latiflora*.

Hintonia standleyana, Bullock = *Coutarea latiflora*, Standley, non Sessé et Moc. ex-D.C., et ne semble pas admettre actuellement le genre *Hintonia*.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS

1) Etude morphologique.

DESCRIPTION DES ÉCHANTILLONS REÇUS.

Deux lots ont été reçus directement du Mexique :

Lot n° 1.

Ce lot, comportant des écorces accompagnées d'un herbier, fut envoyé par J. RZEDOWSKI, chef du Laboratoire de Botanique de l'Instituto de Investigacion de Zonas deserticas, Université autonome de San Luis Potosi. Il est parvenu au Laboratoire de Matière médicale au mois d'août 1957.

L'herbier est constitué par un rameau principal de 18 cm de long et de 3 mm de diamètre, à surface finement striée longitudinalement, ramifié dichotomiquement. Chaque ramification porte à son extrémité un bouquet de feuilles opposées décussées et trois ou quatre fleurs (Fig. 4).

Les feuilles sont petites (il s'agit d'un rameau terminal), 2 cm de long sur 0,8 cm de large, pétiolées (5 mm), ovales, elliptiques, pointues à l'extrémité, atténuées à la base. De couleur vert foncé à la face supérieure, elles sont vert grisâtre à la face inférieure, teinte due à de nombreux poils, déjà visibles à l'œil nu et plus nettement à la loupe, notamment au niveau des nervures et sur la marge du limbe.

Les fleurs, groupées par trois ou quatre, sont pédicellées; il n'existe pas de bractéoles visibles à la base du pédicelle qui a 4 à 6 mm de long. La corolle, infondibuliforme, a 3 ou 4 cm, le tube évasé, ne représentant que les deux tiers de la longueur totale, est sensiblement droit et la fleur subrégulière. Le calice



Fig. 4. — *Coularea latiflora*, D.C. — Herbar du lot N° 1.
A et B, rameaux fleuris; C, capsule ouverte, face externe;
D, capsule ouverte, face interne.
(Réduit aux 4/7)

comporte six sépales en alène réunis à la base en un tube court, très velu et en forme de toupie. La corolle, jaune verdâtre, est poilue sur les côtes de la face externe, chaque lobe régulièrement triangulaire, de 6 à 10 mm de long, comporte une petite saillie brunâtre à son extrémité. Il y a six étamines incluses dans le tube de la corolle, avec de longues anthères de 1,5 mm; le style, légèrement plus long que les étamines est bifide.

La capsule, ouverte, ne renferme plus de graines. Elle est brune, de 2 cm de long sur 1,4 cm de large, ovoïde, légèrement comprimée, à côtes fines, sans lenticelles visibles, la déhiscence est septicide par deux valves.

Par l'absence de bractéoles à la base des pédicelles, le tube droit de la corolle, la coloration jaunâtre des fleurs, la capsule lisse sans lenticelles visibles et ne dépassant pas deux centimètres de long, l'échantillon reçu correspond à la description donnée par BULLOCK pour l'espèce : *Hintonia standleyana*, Bullock (= *Coutarea latiflora*, Standlèy, non Sessé et Mocino - voir page 34).

Les écorces correspondant à cet herbier sont constituées par des fragments minces et des copeaux de 1 à 2 cm d'épaisseur. Sous le suber blanc jaunâtre, partiellement exfolié, la surface est gris-brun et présente de nombreuses et fines stries longitudinales; les crevasses transversales sont rares mais très marquées. La face interne est striée, de couleur brun-chamois, parfois rougeâtre. La cassure est légèrement fibreuse et jaunâtre. La saveur de ces écorces est très amère et l'odeur est très légèrement aromatique.

Lot n° 2.

Ce lot d'écorces* est accompagné d'un herbier comportant un rameau de 11 cm de long, de 2 mm de diamètre, sans feuilles ni fleurs, finement strié longitudinalement et ramifié dichotomiquement, quelques capsules ouvertes et des échantillons d'écorces prélevées à des niveaux différents. Ces échantillons ont été récoltés par A. GOMEZ POMPA, biologiste de Mexico, sur un petit arbre de la forêt à feuilles caduques, dont le canon de Lobos, état de Morolos, au mois de mars 1959.

Les cinq demi-capsules reçues ont de 1,8 cm à 2,2 cm de long sur 0,6 à 0,8 cm de large, elles sont ovoïdes et légèrement comprimées latéralement, à côtes fines, de couleur brune et présentent quelques lenticelles plus claires visibles. Une des capsules renferme encore une graine plate brune de 7 mm de long sur 5 mm de large, y compris l'aile circulaire brun clair de 1 à 1,5 mm de large qui l'entoure.

Le premier fragment d'écorce, prélevé à l'extrémité du rameau, de 0,5 mm d'épaisseur, présente une face externe gris fer, finement striée longitudinalement, la face interne est plus verte, la cassure est légèrement fibreuse et de couleur grise.

Le deuxième fragment, 2 mm d'épaisseur environ, prélevé vers le milieu du rameau, est également strié longitudinalement

(*) Il nous a été obligeamment procuré par Madame GODFRAIN, Pharmacien, et par les Laboratoires de plantes tropicales.

sur la face externe et montre un suber rugueux, bien développé, la face interne striée est brun-rouge, la cassure plus fibreuse est jaune.

Le troisième fragment de 2 à 4 mm d'épaisseur, prélevé à la base du rameau, présente une face externe beige claire, la cassure à fibres courtes est jaune pâle, la face interne est brun-rouge, parfois vineuse. On observe fréquemment lors de la cassure une émission de poussière (oxalate de calcium). La saveur est amère, l'odeur est très faiblement aromatique.

Les écorces qui accompagnent cet herbier sont un mélange de ces trois types.

Lot n° 3.

Un troisième lot commercial (Laboratoires des Plantes tropicales) d'écorces de *Coutarea latiflora* a été étudié.

Ces écorces, légèrement cintrées, de 2 à 3 mm d'épaisseur, présentent une face externe gris verdâtre striée longitudinalement, à suber peu développé, la face interne semble lisse, de couleur variant du jaune verdâtre au vert clair. La cassure, assez nette, est jaune orangé, très poussiéreuse. La saveur est amère.

On note donc quelques différences d'un lot à l'autre, mais il faut tenir compte que les échantillons ont été prélevés sur des arbres d'âge variable et qu'il s'agit tantôt d'écorces entières, tantôt de copeaux obtenus par raclage. Les caractères essentiels des écorces entières sont la teinte gris verdâtre de la face externe, brun-rouge ou verdâtre de la face interne, suivant la profondeur de l'écorçage, la cassure jaune à orangé et la saveur très amère.

2) Etude anatomique.

Des coupes de feuilles, de tiges, d'écorces du lot n° 1 et d'écorces des lots n° 2 et 3 furent effectuées puis examinées microscopiquement après double coloration : carmin aluné et vert d'iode.

Feuille (lot n° 1).

La coupe transversale d'une feuille de 2 cm de long sur 0,7 cm de large a été faite au niveau de la nervure médiane, assez saillante sur la face inférieure. Les épidermes portent de nombreux poils tecteurs unicellulaires surtout abondants sur la

face inférieure. L'arc libéro-ligneux est ouvert, le parenchyme fondamental renferme de nombreuses cellules à sable qui entourent le système vasculaire. Dans le limbe, il existe deux assises de cellules palissadiques surmontant un tissu non lacuneux peu différencié du précédent.

Tige (lot n° 1).

La coupe transversale d'une tige de 4 mm d'épaisseur montre un suber relativement peu important, puis deux ou trois assises de phelloderme, un parenchyme cortical à cellules allongées tangentielllement contenant souvent du sable d'oxalate de calcium; le parenchyme cortical renferme également des cellules scléreuses arrondies, canaliculées, à lumen assez grand et ponctué. Les cônes libériens sont coiffés de quelques fibres que l'on trouve également dans les zones plus profondes du liber. Dans le parenchyme ligneux sclérifié, les vaisseaux sont nombreux et de petite taille. La moelle qui renferme quelques cellules à sable et de nombreuses cellules scléreuses analogues à celles du parenchyme cortical est en forme de navette.

Ecorce (lots n°s 1, 2 et 3).

La coupe transversale d'une écorce de 3 mm d'épaisseur présente les caractères microscopiques suivants (Fig. 5 et 6) :

Le suber formé de cellules régulières, à contenu brunâtre est souvent surmonté de tissu cellulosique, par suite du fonctionnement d'assises subéro-phellodermiques profondes exfoliant plus ou moins l'écorce. Le parenchyme cortical est généralement peu développé, il est formé de cellules allongées tangentielllement renfermant fréquemment du sable d'oxalate de calcium. Il existe dans la partie externe du parenchyme cortical, sous quelques assises de phelloderme, de rares cellules scléreuses, certaines rectangulaires à lumen large et ponctué, d'autres à lumen étroit et canaliculé. Les cônes libériens allongés sont formés de cellules régulières renfermant çà et là des fibres groupées par deux ou trois, les cônes sont séparés par des cellules régulières allongées tangentielllement et dont certaines renferment du sable d'oxalate de calcium, puis vers l'intérieur, par des rayons médullaires uni et bisériés. En coupe transversale, les fibres ont une paroi épaisse, un lumen relativement petit, circulaire ou en étoile, les parois sont déformées par pression réciproque, d'où l'aspect parfois polygonal de la fibre.

En coupe longitudinale, les écorces montrent des fibres libériennes allongées, à pointes courtes, à lumen étroit et finement canaliculé.

Les trois échantillons d'écorces de tronc examinées ont une

structure analogue, les seules différences enregistrées étant le plus ou moins grand nombre de cellules scléreuses et de cellules à sable.

Les écorces de *Coutarea latiflora* présentent donc une structure typique de Rubiacées avec des cellules à sable d'oxalate de calcium et des fibres libériennes (assez voisines de celles des *Cinchona*).

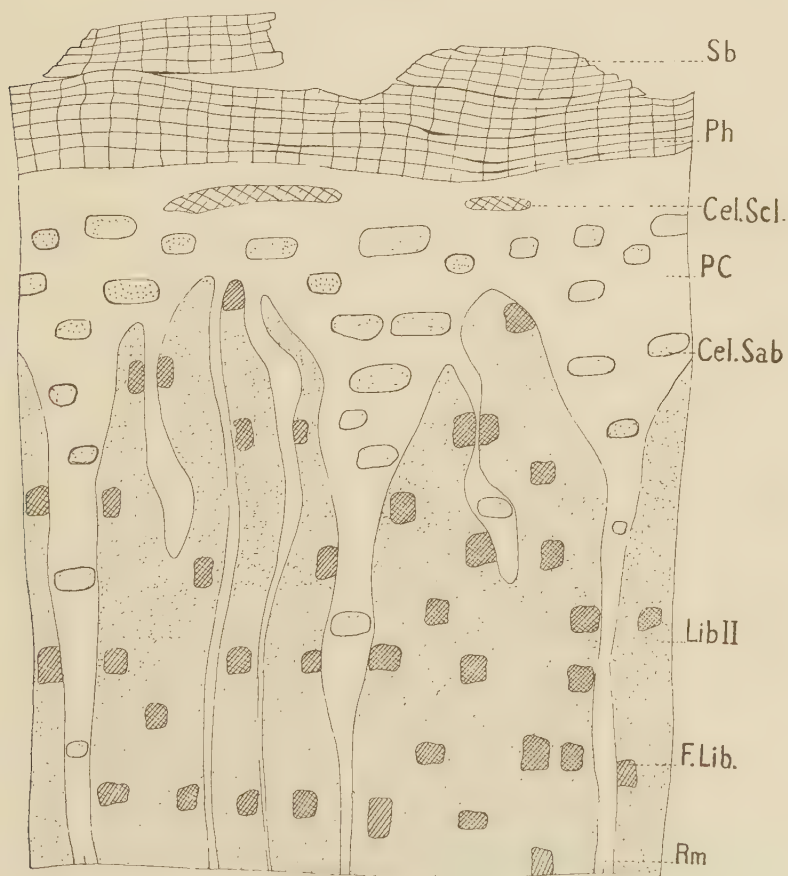


Fig. 5. — *Ecorce de Coutarea latiflora*, D.C. — Coupe transversale (schéma). — Sb, suber; Ph, phelloderme; Cel., Scl., cellule scléreuse; PC, parenchyme cortical; Cel. Sab., cellule à sable d'oxalate; Lib II, liber secondaire; F. lib., fibres libériennes; Rm, rayon médullaire.

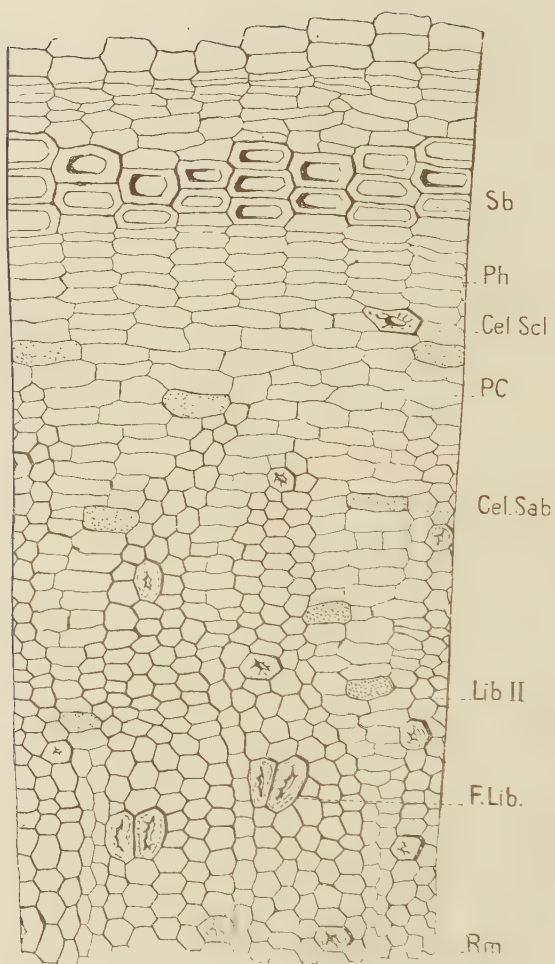


Fig. 6. — *Ecorce de Coutarea latiflora*, D.C. — Coupe transversale (détail). — Sb, suber; Ph, phelloderme; Cel. Scl., cellule scléreuse; PC, parenchyme cortical; Cel. Sab., cellule à sable d'oxalate; Lib II, liber secondaire; F. lib., fibres libériennes; Rm, rayon médullaire.

ETUDE CHIMIQUE

CHAPITRE PREMIER

TRAVAUX ANTERIEURS SUR COUTAREA LATIFLORA, D.C.

La plupart des premiers travaux chimiques sur les « Copalchis » ont été effectués sur des drogues mal identifiées. Il est donc difficile de distinguer ceux qui ont trait au *Coutarea latiflora*, D.C. de ceux qui se rapportent au *Croton niveus*, Jacq.

Nous n'indiquerons ici que les travaux dans lesquels les auteurs précisent avoir étudié le *Coutarea latiflora*, D.C.

En 1868, HENKEL (26) y rapporte la présence d'une substance découverte par SCHAFFNER, pharmacien à Culiacan, et analogue à la portlandine.

En 1904, ARMENDARIS (2) donne les propriétés physico-chimiques de la saponine du « Copalchi » extraite des écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. Cette substance se présente sous forme d'une poudre jaune, de saveur d'abord douce puis amère et styptique. Elle est insoluble dans l'eau froide et l'alcool de titre faible, un peu soluble dans l'éther, très peu dans le chloroforme. L'acide chlorhydrique la colore en jaune et l'acide sulfurique en rose. Sa solution aqueuse, après traitement par l'acide chlorhydrique et neutralisation, réduit la liqueur de Fehling.

En 1913, TERRES (75) puis LANDA (41) notent la présence dans les écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. d'un glucoside et d'une saponine dont l'existence, remarquent-ils, est contestée. Selon eux, il n'existe pas d'alcaloïde dans ces écorces.

Aucun travail chimique expérimental nouveau ne semble avoir été effectué ensuite jusqu'en 1955 où paraît la thèse d'un auteur allemand, GEYER (19) : « A propos de la chimie des écorces de *Coutarea latiflora* », puis un article de KAISER et GEYER (38).

Ces auteurs rappellent les trois espèces principales qui fournissent les « Copalchis » :

— *Croton niveus*, Jacq. (Euphorbiacée).

— *Coutarea latiflora*, D.C. (Rubiacee).

— *Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. (Rubiacee), et étudient au point de vue chimique et pharmacologique les écorces de *Coutarea latiflora*.

En dehors des résultats de déterminations analytiques générales (teneurs en eau, cendres, cellulose, azote protéique), ils signalent dans ces écorces la présence de substances flavoniques, d'alcaloïdes, de saponines, d'un principe amer, de tanin. Ils signalent notamment dans les extraits éthéré, chloroformique, alcoolique et aqueux, l'existence de dérivés flavoniques présentant la réaction de la cyanidine pour de fortes concentrations de substance.

D'après la chromatographie ascendante sur papier, il s'agit de trois dérivés : A, B et C révélés en lumière ultra-violette, avant et après pulvérisation d'une solution de chlorure d'aluminium, ou par une solution diluée de carbonate de sodium et par l'ammoniaque. Les Rf respectifs sont : 0,75, 0,48 et 0,32 pour une chromatographie ascendante faite sur papier Schleicher et Schüll 2043 b, avec le butanol acétique comme solvant.

A partir d'un extrait méthanolique de la drogue, ils réussissent à séparer à l'état cristallisé de faibles quantités (quelques milligrammes) des substances A et B, la première étant la génine de l'hétéroside B. Ce dernier se présente sous forme de cristaux prismatiques jaune foncé, de point de fusion : 263°, donnant une faible réaction de la cyanidine; la solution est fluorescente en jaune brun en lumière ultra-violette et se colore en jaune-rouge avec les alcalis, l'ammoniaque, le carbonate de sodium. Le spectre d'absorption ultra-violet présente : 2 maximums : 210-324 m μ et 2 minimums : 255-355 m μ .

La substance C n'a pas été isolée mais caractérisée seulement par chromatographie sur papier.

Par microhydrolyse acide des produits d'élution des taches

des substances B et C séparées en chromatographie sur papier, les auteurs obtiennent toujours la même génine, identique à la substance A (d'après son Rf : 0,75).

Dans les liqueurs aqueuses d'hydrolyse, ils caractérisent par chromatographie sur papier trois sucres : glucose, rhamnose et arabinose.

La substance A est préparée à partir des écorces par épuisement par le méthanol. L'extrait méthanolique obtenu est hydrolysé par l'acide chlorhydrique dilué. La substance A est extraite des liqueurs acides par l'éther. Elle se présente sous forme d'aiguilles jaunes, de point de fusion supérieur à 350°, donnant une faible réaction de la cyanidine. Sa solution est fluorescente aux rayons ultra-violetes en rose à bleu clair, elle se colore en jaune intense par les alcalis, en jaune vert par l'acide sulfurique. Le spectre ultra-violet, proche de celui des flavones montre : 2 maximums à 217 et 310 m μ et 2 minimums à 260 et 396 m μ .

D'après l'analyse élémentaire, la substance A répondrait à l'une des formules : C₁₅H₁₂O₆ ou C₁₅H₁₀O₅, OH₂.

Quant aux alcaloïdes, ils ont été mis en évidence par chromatographie sur papier (révélation par le réactif de DRAGENDORFF) dans les extraits obtenus par les solvants successifs : éther de pétrole, éthanol, eau acidulée. Ils ont été séparés par la méthode de STAS-OTTO. Vingt grammes d'écorces sont traités par l'éther ammoniacal qui est ensuite épuisée par l'acide chlorhydrique dilué. La liqueur acide est alcalinisée par la soude et épuisée par l'éther. La liqueur organique déshydratée sur sulfate de sodium est évaporée. Le résidu a été étudié comparativement à la teinture de Quinquina en chromatographie sur papier (butanol acétique). Après révélation par le réactif de DRAGENDORFF, deux spots sont mis en évidence dans l'extrait alcaloïdique dont les Rf correspondent à ceux de la quinine et de la quinidine. Ces résultats sont confirmés par la méthode de CASTILLE dans laquelle le papier à chromatographie est imprégné d'une solution 0,02 M d'oxalate de potassium puis séché. Le chromatogramme est ensuite développé par une solution d'oxalate de potassium 1,25 M. Dans ces conditions, les spots des substances alcaloïdiques deviennent fluorescents en bleu clair intense en lumière ultra-violette après pulvérisation d'une solution d'acide sulfurique dans l'acétate d'éthyle. Les flavones, selon les auteurs, n'interviennent pas car elles ne sont pas visibles sur le papier traité par l'acide oxalique.

Enfin, à partir des extraits méthanoliques et aqueux ont été séparées des substances présentant les réactions des saponines (pouvoir aphrogène, hémolyse d'une préparation de sang dans

la gélatine, disparition du pouvoir hémolytique en présence de cholestérol). Une sapogénine amorphe a été obtenue après hydrolyse acide. Du glucose, de l'arabinose et du rhamnose ont été caractérisés dans les liqueurs d'hydrolyse.

Quant au principe amer, il n'a pas été isolé mais, d'après les auteurs, il serait différent des alcaloïdes.

En résumé, les résultats de ces travaux sont assez imprécis. Ont été signalés un principe amer, des alcaloïdes, des saponines. Les seules substances définies et isolées à l'état cristallisé, sont deux dérivés rattachés aux flavonoïdes : les substances A ($F > 350^\circ$) et B ($F = 263^\circ$).

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS : ESSAIS PRELIMINAIRES

Humidité :

L'humidité des divers échantillons d'écorces grossièrement pulvérisées fut déterminée sur des prises d'essai de 2 g par simple dessiccation à l'étuve (trois jours à l'étuve à 37°, deux à trois heures à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant).

Les pertes de poids sont pour les trois lots :

N° 1	8,65 %
N° 2	8,55 %
N° 3	7,45 %

Cendres totales :

Les écorces, précédemment séchées à l'étuve, sont calcinées dans un creuset de quartz de 70 mm de diamètre jusqu'à l'obtention de cendres blanches.

Les résultats pour les différents lots sont les suivants :

N° 1	5,60 %
N° 2	6,05 %
N° 3	8,80 %

Essais préliminaires sur l'infusé à 5 p. 100 :

Des infusés à 5 p. 100 ont été préparés à partir des lots n^{os} 1, 2 et 3. Ils présentent une couleur brun clair pour les deux premiers lots, et jaune pour le troisième. En lumière de Wood, on note une légère fluorescence brun-vert. L'odeur est celle de la plante et la saveur très amère.

Ces infusés donnent les réactions colorées suivantes, avec :

- *Ammoniaque concentrée* : Coloration jaune-brun.
- *Lessive de potasse ou de soude* : Coloration rouge-brun devenant rose pourpre par dilution.
- *Acides chlorhydrique, sulfurique, nitrique* : Pas de coloration nette.
- *Acide sulfurique puis acide nitrique* : Coloration rouge fugace.
- *Acétate neutre et acétate basique de plomb* : Précipités jaunes.
- *Perchlorure de fer alcoolique à 1 p. 100* : Coloration verte.

Recherche des tanins :

Ayant obtenu une coloration verte avec le perchlorure de fer, nous avons recherché les tanins catéchiques par la réaction au formol chlorhydrique (réactif de STIASNY). 5 ml d'infusé à 5 p. 100 sont additionnés de 5 ml de formol chlorhydrique (2/1, en volumes), le tout est chauffé pendant trente minutes à une température inférieure à l'ébullition. Il se produit un précipité caillébotté brun avec les infusés des trois lots. Cette réaction est en faveur de la présence de tanins catéchiques. Après filtration, les liqueurs ne donnent pas de coloration avec le perchlorure de fer (absence de tanins galliques). Avec la gélatine salée à 1 p. 100, on n'obtient aucun précipité (pas de tanins catéchiques condensés).

L'ébullition de l'infusé avec un poids égal d'acide chlorhydrique concentré provoque la formation d'un précipité brun abondant. L'alcool isoamylique ajouté dissout le précipité et se colore en rouge.

Recherche des dérivés flavoniques :

La recherche est faite par la réaction de SHIBATA dite de la cyanidine : 1 ml d'infusé est additionné de 4 ml d'éthanol à 50°, de quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré puis de quelques copeaux de magnésium. On n'obtient pas de coloration rose ou violacée passant dans l'alcool isoamylique, caractéristique des dérivés flavoniques.

Recherche des substances quinoniques :

Deux grammes de poudre sont mis à macérer avec 5 ml de chloroforme pendant une heure en agitant fréquemment. La liqueur organique est épuisée par la lessive de potasse ou de soude qui ne se colore pas. Il n'existe donc pas de dérivés quinonique à l'état libre.

D'autre part, 20 ml d'infusé à 5 p. 100 sont additionnés de 20 ml d'acide chlorhydrique à 5 p. 100 et portés à l'ébullition pendant trois minutes environ. La solution refroidie, est épuisée par 40 ml de chloroforme; 5 ml de solution chloroformique décantée sont additionnés de 1 ml de lessive de potasse qui se colore en jaune orangé puis en rouge groseille par dilution aqueuse (4 ml d'eau). Dans les mêmes conditions, le chloroforme est remplacé par le benzène. La coloration obtenue avec la lessive de potasse est moins intense.

Ces réactions sont en faveur de la présence d'une substance, qui après hydrolyse fournit la réaction colorée des quinones avec les alcalis.

Recherche des saponines :

a) INDICE DE MOUSSE.

L'indice de mousse est déterminé à partir d'un infusé à 1 p. 100, neutralisé par addition goutte à goutte d'une solution de carbonate de sodium à 1 p. 100. Dans une série de tubes à essai de 16 mm de diamètre intérieur et de 16 cm de long, on introduit des quantités croissantes (1, 2, 3... 10 ml) de l'infusé et on complète à 10 ml avec de l'eau distillée. On bouche et agite les tubes pendant quinze secondes. La dilution du tube où la mousse atteint une hauteur de 1 cm et persiste au moins quinze minutes donne l'indice.

Ces conditions sont réalisées pour le tube n° 1 dans l'essai des lots n° 1 et n° 2 et pour le tube n° 2 du lot n° 3. L'indice de mousse est donc environ de 1.000 (lots n° 1 et 2) et de 500 (lot n° 3).

b) INDICE HÉMOLYTIQUE.

Il est déterminé suivant une technique très voisine de celle proposée par MAZUREK (51) pour les drogues à saponines.

On utilise une dilution à 2 p. 100 de sang de mouton défibriné dans un tampon phosphaté isotonique. Le soluté de la drogue est préparé dans ce même tampon de formule : phosphate monopotassique (1,52 g), phosphate dissodique (7,94 g), chlorure de sodium (7,20 g) et eau distillée en quantité suffisante pour 1.000 ml.

Des solutés furent préparés à partir d'écorces des trois lots, pulvérisées (broyeur Turmix). Un gramme de poudre est placé dans une fiole conique contenant 100 ml de solution tampon. La fiole est chauffée à feu nu jusqu'à une température un peu inférieure à 100°, puis on la laisse sur le bain-marie bouillant (la température est ainsi maintenue à environ 80°). Après filtration, on complète à 100 ml avec le tampon.

On prépare dans 11 tubes à hémolyse une gamme en répartissant 2,5 ml de dilution de sang, puis : 2,5 ml, 2,25 .2..... 0 ml de tampon et 0 ml, 0,25, 0,50.... 2,50 ml de soluté de drogue.

Le contenu de chaque tube étant mélangé par retournement, on laisse reposer 18 heures. On note alors le premier tube de la série où l'hémolyse est totale.

L'essai a été effectué par comparaison avec la saponine MERK standard.

Dans les conditions opératoires, nous n'avons pas observé d'hémolyse dans les tubes renfermant le soluté de la drogue. L'indice hémolytique est donc inférieur à 200.

D'après ces deux déterminations, les écorces de *Coutarea latiflora* contiennent une petite quantité d'une substance aphrogène qui n'est peut-être pas une saponine, car le pouvoir hémolytique est faible

Recherche des alcaloïdes :

a) La recherche des alcaloïdes a d'abord été faite par la méthode générale de STAS-OTTO.

Dix grammes d'écorces pulvérisées sont imbibés d'ammoniaque au demi puis mis à macérer dans 10 parties du mélange éther-chloroforme (3-1 en volumes). Après 24 heures de contact, les liqueurs organiques filtrées sont épuisées par une solution d'acide sulfurique à 5 p. 100. Celle-ci donne un louche avec les réactifs de MAYER et de BERTRAND, mais rien avec le réactif de DRAGENDORFF. La solution aqueuse est neutralisée puis alcalinisée par l'ammoniaque en présence d'éther-chloroforme. Les liqueurs organiques, séchées sur sulfate de sodium anhydre, sont évaporées dans une capsule tarée.

Dans ces conditions, les résidus obtenus pour les trois lots sont très faibles : inférieurs à 0,01 p. 100.

b) Un examen en chromatographie sur papier de la solution obtenue en reprenant le résidu par une goutte d'alcool à 95° a été pratiqué par la méthode ascendante, sur papier ARCHES 301, dans le solvant de PARTRIDGE (butanol-acide acétique-eau, 4-1-5), durée 16 heures, température $18^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

Après révélation par le réactif de DRAGENDORFF, il n'apparaît pour les trois lots qu'une très faible tache orangé clair au niveau du front du solvant.

c) Etude en électrophorèse sur papier (62).

La méthode précédente n'ayant pas donné de résultats concluants, une étude en électrophorèse sur papier a été effectuée avec l'appareil de MACHEBOEUF. (Durée : 1 heure, tension : 400 volts, tampon acide formique : 5 p. 100.) Les taches sont de 10 μ l. de teinture à poids égal d'écorces.

Deux petites taches d'alcaloïdes sont mises en évidence. Elles sont légèrement fluorescentes en lumière ultra-violette et colorées en jaune orangé par le réactif de DRAGENDORFF. Elles sont à 42 mm et 55 mm de la ligne médiane de l'ionogramme. Les lots nos 1 et 2 présentent ces deux taches tandis que le lot n° 3 ne montre qu'une seule tache située à 42 mm de la ligne médiane.

Nous avons opéré comparativement avec 10 μ l. de solutions de quinine et de quinidine à 1 p. 100, qui dans les mêmes conditions, donnent des taches rose-orangé, l'une et l'autre à 80 mm.

En conclusion, il existe bien des traces d'alcaloïdes dans les écorces de *Coutarea latiflora*, mais ces bases sont différentes de la quinine et de la quinidine signalées par KAISER et GEYER (38) dans leurs écorces de « Copalchi ».

Examen en chromatographie sur papier des teintures d'écorces (63)

Des teintures à poids égal des trois lots d'écorces de *Coutarea latiflora* ont été préparées, par macération dans l'alcool à 60°, pendant 48 heures à l'étuve à 37°. Les colatures sont filtrées et le volume réajusté avec de l'alcool à 60°. Les taches déposées sur les chromatogrammes sont de 5 μ l. de chaque teinture.

Le développement du chromatogramme est fait par la méthode ascendante sur papier ARCHES 301, dans le solvant de PARTRIDGE (butanol, acide acétique, eau 4-1-5) pendant 16 heures à la température de 18° $\pm$ 1°.

Il apparaît ainsi dans le visible et en lumière ultra-violette 5 taches principales dont les Rf sont les suivants :

— $R_f = 0,25$: les trois lots donnent un spot rose orangé dans le visible et rose aux rayons ultra-violets.

— $R_f = 0,54$ et $R_f = 0,45$: deux spots de couleur jaune-vert dans le visible et de même fluorescence brune en lumière ultra-violette. Celle-ci n'est pas modifiée par pulvérisation d'une solution alcoolique à 2 p. 100 de trichlorure d'aluminium. Le spot de $R_f = 0,54$ est surtout très marqué pour la teinture du lot n° 3, tandis qu'il apparaît moins net pour celles des lots n° 1 et n° 2; au contraire le spot de $R_f = 0,45$ est très intense pour les lots n° 1 et 2.

— $R_f = 0,75$: donnée par les teintures des trois lots, cette tache apparaît seulement aux U.-V., sa fluorescence bleue est renforcée par pulvérisation de la solution alcoolique de trichlorure d'aluminium.

— $R_f = 0,90$: tache donnée seulement par les écorces du lot n° 3. Elle est de couleur jaune pâle dans le visible, de fluorescence vert pâle en lumière ultra-violette, inchangée après pulvérisation d'une solution de trichlorure d'aluminium.

L'action de divers réactifs a été étudiée sur les chromatogrammes des teintures des trois lots, développés dans les mêmes conditions que précédemment.

— *Solution de potasse à 5 p. 100 dans l'alcool à 96°.*

Le spot de $R_f = 0,90$ apparaît en jaune, ceux de $R_f = 0,54$ et 0,45 en rose orangé.

— *Solution de perchlorure de fer à 1 p. 100.*

Les taches de R_f 0,90, 0,54 et 0,45 sont colorées en vert.

— *Solution de trichlorure d'antimoine à 10 p. 100 dans l'acétone.*
Les trois taches précédentes apparaissent en jaune.

— *Solution d'acétate de magnésium à 2 p. 100 dans l'alcool à 96°.*

La pulvérisation de cette solution n'apporte pas de changement à la coloration initiale des taches dans le visible, ni à leur fluorescence aux ultra-violets.

— *Réactif citroborique ou réactif de WILSON.*

La pulvérisation de solutions acétoniques anhydres saturées d'acide borique et d'acide citrique, mélangées à parties égales au moment de l'emploi, est sans effet sur la coloration et la fluorescence des taches des chromatogrammes.

— *Réactif à la ninhydrine.*

Après pulvérisation de la solution de ninhydrine à 0,20 p. 100 dans l'acétone, séchage du chromatogramme pendant cinq minutes à l'étuve à 100° et stabilisation des taches par action d'une solution de nitrate de cuivre, on obtient un spot rose de $R_f = 0,15$.

— *Réactif au bismuthi-iodure de potassium ou réactif de DRAGENDORFF.*

Après pulvérisation du réactif, il n'apparaît pour les trois lots qu'une très faible tache orangé clair au niveau du front du solvant.

En résumé, la chromatographie sur papier des teintures permet pour les trois lots de mettre en évidence deux taches de fluorescence brune aux ultra-violets, colorées en rose orangé par la potasse alcoolique, en vert par le perchlorure de fer. Ces réactions sont également données par l'infusé. Il s'agit vraisemblablement de substances de nature phénolique mais qui ne semblent pas appartenir aux flavones vraies (réaction de la cyanidine et réaction de WILSON négatives).

Recherche des oses :

Elle a été faite en chromatographie descendante continue sur papier, par comparaison des teintures d'écorces dans l'alcool à 60°, correspondant à leur poids de plante, à des solutions témoins à 2 p. 100 des oses suivants : glucose, galactose, fructose, arabinose, rhamnose. Les taches ont été de 5 μ l. sur papier ARCHES 301, le solvant : le mélange pyridine, butanol et eau (2,5 - 4,5 - 4), durée de développement : 36 heures à la température de 20°.

La révélation a été faite par immersion du papier dans une solution de benzidine (benzidine : 0,10 g, acide acétique : 4 ml, éthanol en quantité suffisante pour 20 ml), puis essorage entre deux feuilles de papier filtre et séchage du chromatogramme à l'étuve à 100° pendant 3 à 4 minutes.

Seules les taches des solutions témoins apparaissent en jaune brun. Dans les conditions expérimentales précédentes, il n'a pas été mis en évidence d'oses réducteurs dans les écorces de *Coutarea latiflora*.

CHAPITRE III

SEPARATION DES SUBSTANCES PHENOLIQUES

a) Extraction par les solvants successifs.

Nous avons essayé de séparer les substances précédemment caractérisées en chromatographie sur papier et responsables des colorations de l'infusé (rose pourpre avec les alcalis, verte avec le perchlorure de fer).

L'épuisement a été réalisé dans un appareil de SOXHLET sur 350 g de drogue pulvérisée des lots n°s 1 et 3 et sur 100 g du lot n° 2. Il a été poursuivi pour chaque solvant jusqu'à décoloration des liqueurs extractives. Après chaque extraction, le marc a été séché à l'air avant d'être traité par un nouveau solvant.

Les rendements en extraits secs avec les différents solvants sont les suivants :

<i>Solvant</i>	<i>Durée de l'épuisement</i>	<i>Rendements</i>		
Ether de pétrole	.4 heures	1,14 %	0,73 %	0,78 %
Chloroforme	4 heures	1 %	1,36 %	0,94 %
Ether sulfurique	..4 heures	0,30 %	0,20 %	0,32 %
Acétate d'éthyle	..2 épuisements de			
	4 heures	2,65 %	1,30 %	4,16 %
Acétate d'éthyle	+5 % d'éthanol			
	2 épuisements de			
	4 heures	1,51 %	2,63 %	2,05 %
Acétone	4 heures	2,79 %	2,05 %	2,86 %
Ethanol	2 épuisements de			
	4 heures	16,32 %	13,86 %	9,21 %

1) *Extrait éthéro-pétrolique :*

La liqueur jaune verdâtre est concentrée. Après évaporation complète du solvant, il reste un produit brun-jaune, de consistance molle, sans saveur caractéristique, à odeur légèrement aromatique. Cet extrait donne avec la solution chloroformique de trichlorure d'antimoine une coloration violacée (réaction de CARR et PRICE). Avec l'acide sulfurique concentré, on obtient une coloration verte. Ces deux réactions indiquent donc la présence de caroténoïdes. La réaction de LIEBERMANN (anhydride acétique plus acide sulfurique concentré en milieu chloroformique) ne donne qu'une teinte brun clair (absence de stérols).

L'examen de cet extrait en chromatographie ascendante sur papier ne fournit aucune tache bien définie (papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, durée 16 heures, température $18^{\circ} \pm 1^{\circ}$, taches de 2,5 μ l. de solution alcoolique saturée de l'extrait éthéropétrolique).

2) *Extrait chloroformique :*

Après élimination complète du solvant, l'extrait est jaune verdâtre, pulvérulent, sans odeur et saveur définies. Les réactions des caroténoïdes (CARR et PRICE, acide sulfurique concentré) sont positives. La réaction des stérols est négative (LIEBERMAN). En chromatographie sur papier, dans les conditions décrites précédemment, cet extrait donne une tache fluorescente bleue intense en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,75$.

3) *Extrait éthéré :*

Extrait mou, brun verdâtre, à saveur légèrement amère, surtout nette pour le lot n° 3. L'examen en chromatographie ascendante sur papier montre un premier spot jaune dans le visible, de $R_f = 0,90$ et un deuxième, jaune-vert dans le visible, de $R_f = 0,54$, surtout très marqué pour le lot n° 3.

4) *Extrait acétate d'éthyle :*

Les liqueurs jaunes provenant des deux épuisements successifs, concentrées une première fois, fournissent, après repos au réfrigérateur, un précipité floconneux jaune pour le lot n° 3 et beige pour les lots n° 1 et 2. Une seconde concentration des liqueurs mères permet de séparer un nouveau dépôt de teinte

plus claire. Tous ces précipités sont recueillis par centrifugation et portés immédiatement sous vide en présence d'anhydride phosphorique jusqu'à complète dessiccation. Ces précipités, très amers, fournissent les réactions colorées indiquées précédemment pour l'infusé avec le perchlorure de fer, la potasse, les acides sulfurique et chlorhydrique, et la précipitation par le réactif de STIASNY. En chromatographie ascendante sur papier, par la méthode décrite à propos des teintures, ces extraits montrent trois taches dont deux sont jaune-vert dans le visible, de fluorescence brune aux ultra-violets et de $R_f = 0,45$ et $0,54$. Ces taches virent au rose-orangé par pulvérisation de potasse alcoolique et au vert par action de la solution de perchlorure de fer. La troisième tache de $R_f = 0,25$ est rose-orangé dans le visible et rose en lumière ultra-violette, elle ne donne pas de coloration nette avec les réactifs précédents. Cette dernière tache est présentée par les trois lots, la tache de $R_f = 0,54$ est plus marquée pour le lot n° 3 tandis que celle de $R_f = 0,45$ est surtout nette pour les lots n° 1 et 2.

5) *Extrait acétate d'éthyle additionné de 5 p. 100 d'éthanol :*

Après concentration sous vide jusqu'à début de précipitation, les liqueurs jaunes provenant de deux épuisements successifs abandonnent après refroidissement et repos au réfrigérateur des précipités légèrement plus foncés que les précédents. Ces précipités recueillis comme précédemment donnent les mêmes réactions colorées que les extraits acétate d'éthyle et présentent des chromatogrammes analogues, la tache de $R_f = 0,45$ est cependant plus nette.

6) *Extrait acétonique :*

Les solutions, jaune-brun, fournissent après concentration un précipité brun ne présentant pas les réactions colorées précédentes. Le chromatogramme correspondant montre des taches situées au même niveau que celles fournies par les extraits acétate d'éthyle, mais très atténuées.

7) *Extrait alcoolique :*

Les solutions brun-rouge provenant de deux épuisements successifs, laissent, après refroidissement lent, déposer des cristaux en aiguilles très fines. Ces cristaux sont mêlés à une poudre brune.

ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION DU MANNITOL.

Les précipités issus des extraits acétonique et alcoolique sont traités par un minimum de méthanol bouillant pour obtenir leur dissolution. Les liqueurs alcooliques chaudes sont filtrées et mises à refroidir lentement. Il précipite ainsi de longues aiguilles blanches qui, recueillies par centrifugation, sont lavées dans le méthanol à la température de 4°, séchées sous vide en présence d'anhydride phosphorique et recristallisées dans le méthanol bouillant.

Les cristaux recueillis et séchés ont un point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) de 166°-167°, identique à celui d'un témoin de mannitol.

Des dérivés acétylés du produit extrait et de mannitol témoin ont été préparés par acétylation à froid par l'anhydride acétique en milieu sulfurique. Le point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) est de 125° pour le dérivé acétylé du principe extrait et de 126° pour celui du mannitol témoin.

La chromatographie descendante continue sur papier ARCHES 301 de la substance étudiée et du mannitol témoin montre un déplacement identique. Le solvant utilisé pour le développement du chromatogramme est le mélange : pyridine, butanol et eau (2,5 - 4,5 - 4) pour une durée de 36 heures à la température de 20°. La révélation est faite par pulvérisation d'une solution alcoolique à 5 p. 100 de nitrate d'argent dans laquelle l'ammoniaque est ajoutée goutte à goutte jusqu'à disparition du précipité initial d'hydroxyde d'argent. Le chromatogramme est séché à l'étuve à 100° pendant 4 minutes (7 bis, 63 bis).

D'après ces données, on peut affirmer que le produit est bien du mannitol.

Les précipités provenant de l'épuisement par les solvants successifs (acétate d'éthyle, acétone, éthanol) des écorces de *Coutarea latiflora* des trois lots, ainsi que des teintures correspondant à leur poids de plante, sont examinés en chromatographie sur papier dans les mêmes conditions. Il apparaît ainsi pour tous une tache noire identique à celle du mannitol, très intense pour les précipités acétonique et alcoolique.

En résumé, c'est dans l'extrait acétate d'éthyle, d'après les essais précédents, que semblent contenus les principes phénoliques intéressants de la drogue. Les essais de séparation de ces substances par purification des précipités obtenus dans l'acétate d'éthyle et leurs propriétés physico-chimiques seront étudiés d'une manière plus approfondie dans les chapitres suivants. D'autre part du mannitol a été isolé à l'état cristallisé des extraits alcoolique et acétonique.

b) Etude des précipités séparés de l'extrait acétate d'éthyle des lots n° 1 et n° 3.

Les précipités obtenus par concentration des liqueurs d'extraction acétate d'éthyle des lots n° 1 et n° 3 se présentent sous forme d'une poudre amorphe beige (lot n° 1), ou jaune ocre (lot n° 3), non hygroscopique, de saveur amère, fondant respectivement vers 227° et 270° (bloc MAQUENNE). Ces poudres sont pratiquement insolubles dans le benzène, l'éther de pétrole, le chloroforme. Traitées par l'éther sulfurique, elles n'y abandonnent que des traces d'un produit donnant une coloration jaune orangé avec la potasse alcoolique. Ces substances sont peu solubles dans l'acétate d'éthyle (1 partie pour 250 de solvant) plus solubles dans l'acétone (1 partie pour 90), solubles dans l'éthanol et le méthanol. Elles sont relativement peu solubles dans l'eau à froid, davantage à l'ébullition (1 partie pour 15, lot n° 1 et 1 partie pour 6, lot n° 3). Le pH des solutions aqueuses est légèrement acide, elles font virer en jaune la solution de bleu de bromothymol. Rappelons qu'en chromatographie sur papier, dans le mélange de PARTRIDGE, elles donnent deux taches jauneverd dans le visible, à fluorescence brune en lumière ultra-violette, et de $R_f = 0,45$ et $0,54$, puis une tache rose orangé dans le visible, à fluorescence rose aux UV, de $R_f = 0,25$.

Les précipités présentent les réactions colorées suivantes :

- ammoniaque : jaune-brun;
- lessives de potasse et de soude : rose orangé virant au rose par dilution;
- acide nitrique dilué au 1/10 à chaud : rouge fugace;
- acide nitrique dilué à chaud additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré : rouge sang;
- acide chlorhydrique concentré : rose virant au jaune-vert par dilution aqueuse;
- acide sulfurique : rose très fugace passant au brun;
- la réaction de la cyanidine est négative;
- trichlorure d'antimoine en solution chloroformique : jaune virant à l'orangé à chaud;
- pentachlorure d'antimoine en solution chloroformique : jaune;
- la solution de nitrite de sodium dans le méthanol ne donne qu'une coloration jaune que l'addition de lessive de potasse fait immédiatement virer au rouge.

De plus, avec les solutions aqueuses saturées de ces précipités, on obtient les réactions suivantes :

- perchlorure de fer à 1 p. 100 : vert;
- sous acétate de plomb : précipité jaune;
- réactif de STIASNY (formol chlorhydrique) à chaud fournit un précipité, mais non la gélatine salée.

Ces réactions montrent que les précipités provenant de l'acétate d'éthyle renferment les substances de nature phénolique déjà mises en évidence dans les essais préliminaires.

c) Essais de purification de l'extrait acétate d'éthyle.

Des essais de purification ont été effectués sur le précipité acétate d'éthyle provenant du lot n° 3 pour lequel le rendement en extrait total a été le plus important. A la suite de ces essais, ont été établies plusieurs méthodes de fractionnement des divers constituants des précipités acétate d'éthyle des trois lots.

Les différents stades de purification ont été suivis par l'étude en chromatographie sur papier, dans les conditions déjà décrites, des produits séparés et par les réactions colorées données avec la lessive de potasse, le perchlorure de fer à 1 p. 100, l'acide chlorhydrique concentré.

1. — *Epuisement à chaud par différents solvants.*

a) Un premier essai est effectué en reprenant directement au bain-marie bouillant 1 g de substance brute par la quantité nécessaire d'acétate d'éthyle pour en obtenir la dissolution. Les liqueurs organiques, après refroidissement abandonnent 0,150 g d'un produit amorphe rose, fondant vers 260°. Sa fusion n'est pas nette. La chromatographie sur papier révèle pour cette substance une tache principale de $R_f = 0,54$. Les lessives de potasse et de soude donnent une coloration rose orangé, le perchlorure de fer à 1 p. 100, une teinte verte, l'acide chlorhydrique concentré : jaune-vert.

b) Un deuxième essai est réalisé en traitant, dans un appareil extracteur type micro-Kumagawa, 1 g de substance successivement par le chloroforme, l'éther et l'acétate d'éthyle.

Un gramme de substance brute, mélangée avec trois fois son volume de Kieselgur (Hyflosupercel), est placé dans une petite allonge genre Kumagawa. La vapeur du solvant se condense à la partie supérieure de l'appareil et la substance se trouve lixiviée

à chaud. L'épuisement est poursuivi pendant quatre heures par le chloroforme à l'ébullition. Après refroidissement, les liqueurs chloroformiques incolores évaporées ne laissent pratiquement pas de résidu. La nacelle contenant la substance est mise à sécher sous vide en présence d'anhydride phosphorique pour être ensuite traitée par l'éther, également pendant quatre heures. Les solutions éthérées sont légèrement colorées en jaune et laissent après l'évaporation 0,01 g d'une poudre jaune ayant les mêmes propriétés que le produit initial. La substance ainsi traitée puis séchée est épuisée à deux reprises par l'acétate d'éthyle pur (125 ml chaque fois). L'épuisement est arrêté quand les solutions acétate d'éthyle colorées en jaune se troublent et commencent à précipiter. Par refroidissement des liqueurs, il se dépose 0,80 g d'un produit qui est recueilli par centrifugation puis séché sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Il se présente sous forme d'une poudre jaune pâle, amorphe, légère, s'accrochant aux parois du flacon, de saveur amère, donnant trois taches en chromatographie sur papier dans le mélange de PARTRIDGE comme le produit initial. Dans la nacelle, reste un produit brun-rose partiellement résinifié, ne donnant plus les réactions colorées précédemment décrites, avec la lessive de potasse et le perchlorure de fer.

Dans un autre essai on traite d'abord par l'acétate d'éthyle anhydre puis par l'acétate d'éthyle à demi saturé d'eau, à trois reprises. Deux épuisements sont ensuite effectués avec l'acétate d'éthyle anhydre. L'étude en chromatographie sur papier montre que les produits obtenus par concentration des liqueurs d'acétate d'éthyle à demi saturé d'eau sont enrichis en substance de $R_f = 0,54$.

2. — *Précipitation par l'éther de pétrole.*

Un gramme de précipité brut acétate d'éthyle est épuisé au bain-marie bouillant par 100 ml d'acétate d'éthyle pur. Les liqueurs acétate d'éthyle sont additionnées de leur volume d'éther de pétrole, un précipité jaune se forme, qui est recueilli par centrifugation puis séché sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Les eaux mères sont à nouveau traitées par leur volume d'éther de pétrole, il se forme un précipité de teinte rose, qui est recueilli comme précédemment. Examinés en chromatographie, ces précipités présentent les mêmes taches que le produit initial. Il n'y donc pas eu de purification.

3. — *Chromatographie d'adsorption sur colonne.*

La chromatographie sur colonne ayant donné de bons résultats pour la séparation des substances phénoliques, nous avons

appliqué cette méthode aux produits bruts provenant des extractions par les solvants organiques.

L'adsorbant utilisé a été la cellulose DURIEUX anhydre ou tamponnée à pH : 5,2 par addition de deux fois son poids de solution de tampon SORENSEN (phosphate monopotassique et soude). Des solvants très purs ont été employés pour l'élution.

a) Colonne de cellulose anhydre :

Un tube de verre Pyrex, de 56 cm de haut et 22 mm de diamètre, muni d'un robinet à sa partie inférieure, est rempli aux deux tiers environ avec 40 g de poudre de cellulose tassée le plus régulièrement possible. Un gramme de substance, mélangé dans un mortier avec un poids égal de cellulose est placé à la partie supérieure de la colonne. Le tout est surmonté d'un disque de coton hydrophile. On élue successivement par le chloroforme, l'éther sulfurique, l'acétate d'éthyle en recueillant des fractions de 25 ml. L'élution par le même solvant est poursuivie jusqu'à ce qu'une fraction de 10 ml de l'éluat ne donne plus de résidu d'évaporation sensible.

— Les éluats chloroformiques (250 ml) laissent un résidu de 10 mg ne donnant pas la réaction de LIEBERMANN, mais une coloration brun-vert avec l'acide sulfurique concentré et rouge avec le réactif de SALKOWSKI (chloroforme et acide sulfurique).

— L'éther sulfurique (250 ml) donne un résidu de 15 mg d'une substance présentant des réactions analogues.

— Eluats d'acétate d'éthyle (2.000 ml) : des prises d'essai de 10 ml des dix premières fractions puis d'une fraction sur cinq sont évaporées à sec, reprises par quelques gouttes d'éthanol et les solutions éthanoliques sont soumises à la chromatographie ascendante sur papier ARCHES 301 (mélange de PARTRIDGE). On remarque l'identité de composition de toutes les fractions entre elles. On note ainsi la présence des trois spots de $R_f = 0,54 - 0,45 - 0,25$, identiques à celles données par le produit de départ.

Il n'y a donc eu aucun fractionnement par cette méthode.

b) Colonne de cellulose tamponnée à pH 5,2 :

Le montage de la colonne a été effectué comme dans le cas précédent mais avec de la cellulose humectée du tampon phosphaté. L'essai est effectué sur 1 g de produit provenant du traitement dans l'appareil type micro-Kumagawa. Les solvants,

saturés de tampon sont successivement : chloroforme, éther sulfurique, acétate d'éthyle, acétate d'éthyle additionné de 5 p. 100 d'éthanol, éthanol. Les fractions recueillies sont de 25 ml.

Les mêmes résultats que précédemment sont obtenus pour les éluats chloroformique et éthéré.

Les éluats acétate d'éthyle sont examinés en chromatographie sur papier. Les premières fractions montrent encore les trois taches du produit initial mais après la dixième fraction on n'observe qu'une seule tache importante, de $R_f = 0,54$. Le rendement en produit purifié est maximum à la dixième fraction (1,6 p. 100 de la substance traitée), puis stationnaire pendant les vingt fractions suivantes et décroît ensuite lentement. Les fractions acétate d'éthyle-éthanol donnent des produits moins purs mais enrichis en principe de $R_f = 0,45$, la tache de $R_f = 0,25$ est également très intense. L'éthanol entraîne en grande partie dans les fractions suivantes la substance brune qui imprègne la cellulose, qui semble provenir de l'oxydation des produits, survenant malgré la protection de la colonne par un papier noir.

Cet essai ayant donné des résultats intéressants, de nouvelles quantités de précipités obtenus dans l'acétate d'éthyle ont été traitées par la même méthode. L'opération a été conduite plus rapidement pour éviter l'oxydation des substances et les éluats groupés par fractions plus importantes.

Deux colonnes A et B ont été montées, la première : A pour le traitement du précipité brut acétate d'éthyle provenant du lot n° 1 et la deuxième : B pour le précipité provenant du lot n° 3. L'élution a été obtenue par des solvants saturés de tampon et qui ont été successivement : le chloroforme (300 ml), l'éther sulfurique (500 ml, recueillis en deux fractions de 250 ml), l'acétate d'éthyle (1.125 ml, recueillis en cinq fractions, la première de 125 ml, renfermant un mélange d'éther sulfurique et d'acétate d'éthyle étant mise de côté), l'acétate d'éthyle additionné de 5 p. 100 de butanol (250 ml), le butanol (250 ml).

Les différentes fractions sont évaporées sous vide jusqu'à début de précipitation. Après repos au réfrigérateur, les précipités sont recueillis par centrifugation et mis à sécher sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Les eaux mères sont concentrées à leur tour et les précipités recueillis comme précédemment; tous sont examinés en chromatographie ascendante (papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, durée : 16 heures, température : $18^\circ \pm 1^\circ$, taches de $2,5 \mu\text{l.} = 10 \gamma$ de substance).

L'éluat chloroformique évaporé fournit des résidus représentant 3,3 p. 100 (colonne A) et 5,1 p. 100 (colonne B) de la substance mise en œuvre, donnant une coloration brune par la

réaction de LIEBERMANN (anhydride acétique et acide sulfurique), brun-vert avec l'acide sulfurique concentré. En chromatographie, on note une tache de $R_f = 0,75$ de fluorescence bleue en lumière ultra-violette.

L'éluat éthéré donne des résidus représentant 3,3 p. 100 (colonne A) et 2,3 p. 100 (colonne B) du produit initial, montrant en chromatographie une tache jaune dans le visible et jaune-vert dans l'ultra-violet, de $R_f = 0,90$.

Les éluats acétate d'éthyle concentrés produisent des précipités non cristallisés de couleur beige, qui, examinés en chromatographie, donnent une tache de $R_f = 0,54$ unique pour la colonne A. Les rendements en produits extraits sont les suivants pour les quatre fractions éluées :

Colonne A : 9 p. 100, 10 p. 100, 1,6 p. 100, 1,7 p. 100 de la substance brute traitée.

Colonne B : 20 p. 100, 28 p. 100, 24 p. 100, 3,4 p. 100 de la substance brute traitée.

Les éluats acétate d'éthyle-éthanol, donnent pour les deux colonnes des produits enrichis en substance $R_f = 0,45$, mais encore accompagnés d'une substance de $R_f = 0,25$. Les rendements obtenus sont pour les deux fractions éluées :

Colonne A : 18 p. 100 et 2 p. 100.

Colonne B : 10 p. 100 et 1,6 p. 100.

L'addition de butanol à l'acétate d'éthyle n'augmente pas son pouvoir séparateur. Les rendements en produits extraits sont, pour la colonne A :

- acétate d'éthyle et 5 p. 100 de butanol : 1,7 p. 100;
- acétate d'éthyle et 10 p. 100 de butanol : 4 p. 100;
- butanol pur : 2 p. 100.

Pour la colonne B, les rendements correspondants sont de 2 p. 100, 3 p. 100 et 6 p. 100.

En résumé, la colonne A a fourni par élution au moyen de l'acétate d'éthyle pur 22,3 p. 100 de la substance de départ d'un produit crème amorphe ($F = 236^{\circ}$ - 237° , bloc MAQUENNE) donnant en chromatographie une seule tache importante jaune-vert dans le visible à fluorescence brune en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,54$ et que nous appelons Substance I.

L'élution par l'acétate d'éthyle renfermant 5 p. 100 d'éthanol a donné 20 p. 100 d'un produit rosé, également amorphe, qui en chromatographie sur papier fournit une tache principale de $R_f = 0,45$ jaune-vert dans le visible, de fluorescence brune aux

UV (substance II) et qu'accompagne une tache rose orangé à fluorescence rose en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,25$.

La colonne B, dans les mêmes conditions, fournit une plus forte proportion de substance I (75,4 p. 100) et 11,6 p. 100 de produit riche en substance II. Les deux principes séparés présentent, comme le produit de départ des colorations nettes avec les lessives de potasse et de soude (coloration rose orangé) et le perchlorure de fer (coloration verte).

Le produit, riche en substance II, de $R_f = 0,45$, provenant de la concentration des éluats acétate d'éthyle-éthanol de la colonne A est dissous à chaud dans le minimum d'éthanol. Par refroidissement, précipitent des aiguilles jaunes qui sont lavées à l'éther, séchées puis sont reprises une deuxième fois par l'éthanol à chaud. On obtient ainsi des aiguilles blanches, très amères, ne donnant aucune réaction colorée avec les alcalis et le perchlorure de fer. Étudiées en chromatographie sur papier, dans les conditions précédentes, cette substance III, ne donne aucune tache visible en lumière ultra-violette. Ce produit peut encore être préparé en dissolvant à chaud le précipité brut de l'acétate d'éthyle dans le minimum d'acétate d'éthyle renfermant 5 p. 100 de butanol. Par refroidissement, il se dépose des aiguilles analogues aux précédentes, amères, de point de fusion peu net : 215° à 220° au microscope à point de fusion de REICHERT, voisin de 250° au bloc MAQUENNE.

4. — *Traitement à chaud par l'eau distillée.*

Un gramme de précipité brut de l'acétate d'éthyle est traité à l'ébullition par le minimum d'eau distillée pour le dissoudre, soit 6 ml environ. La solution filtrée chaude est laissée à refroidir à la température du laboratoire puis au réfrigérateur à 4° . Après 24 heures, le précipité blanc-crème est mis à sécher sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Les eaux mères sont jaunes. On obtient ainsi 0,20 g de produit amer, cristallin. Celui-ci se ramollissant vers 177° - 178° , fond instantanément à 238° (bloc MAQUENNE); examiné en chromatographie sur papier, il donne une seule tache de $R_f = 0,54$. Il s'agit donc de la substance I. Elle donne une coloration rose orangé avec la lessive de potasse, verte avec le perchlorure de fer, jaune-vert avec l'acide chlorhydrique (et non rose comme le produit brut).

Cette substance cristalline est alors dissoute à chaud dans la quantité minimum d'un mélange à parties égales d'eau et acétone. La solution est évaporée au bain-marie. Dans la solution aqueuse, restant après évaporation de l'acétone, il apparaît après refroidissement des tablettes grisâtres qui sont recueillies par

centrifugation, lavées à l'eau glacée et séchées sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Examinées en chromatographie, ces tablettes ne donnent qu'une seule tache de $R_f = 0,54$. Le point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) est 238° . Le rendement en substance I purifiée est de 50 p. 100 du produit cristallin.

La substance I a été préparée par cette méthode à partir du précipité acétate d'éthyle du lot n° 3 avec un rendement moyen de 24 p. 100 en produit semi-cristallin et de 12 p. 100 en produit bien cristallisé. Après recristallisation dans l'éthanol, le point de fusion ne varie pas (238° bloc MAQUENNE):

Pour le précipité acétate d'éthyle du lot n° 1, le rendement en substance I n'a été que de l'ordre de 1 p. 100. La chromatographie sur papier des teintures d'écorces avait d'ailleurs montré pour ce lot une tache peu intense de $R_f = 0,54$ (cf. essais préliminaires).

Les eaux mères aqueuses jaunes et les eaux de lavage provenant du traitement précédent (lot n° 3) sont épuisées par le butanol. La solution organique est décantée et concentrée. Un nouveau précipité se forme, riche en substance de $R_f = 0,45$ (substance II) qui est séché sous vide en présence d'anhydride phosphorique et épuisé ensuite dans un micro-Kumagawa par l'acétate d'éthyle. Ce solvant, concentré, abandonne par refroidissement 0,01 g d'une poudre brun-rouge, amorphe, de point de fusion instantané : 280° (bloc MAQUENNE). Elle ne donne qu'une tache fluorescente, jaune-vert ($R_f = 0,45$) en chromatographie sur papier et fournit les mêmes réactions colorées que la substance I avec les alcalis et le perchlorure de fer.

5. — *Traitement par le mélange éthanol, éther éthylique à parties égales.*

Ce solvant a été choisi pour éviter l'entraînement du mannitol qui était un inconvénient de la méthode d'extraction par l'eau bouillante.

0,50 g de précipité acétate d'éthyle provenant du lot n° 1 sont ainsi traités à ébullition par 10 ml du mélange éthanol-éther éthylique. Après filtration, la solution est concentrée au bain-marie. Par refroidissement, il se dépose des cristaux jaunes qui sont lavés à l'éther et séchés. 0,015 g de produit sont ainsi obtenus et purifiés par redissolution à chaud dans un minimum d'éthanol. On obtient des tablettes de $F = 238^\circ$ (bloc MAQUENNE), de $R_f = 0,54$, qui représentent donc la substance I.

Par cette méthode, le rendement en substance I a été de 2,6 p. 100 du précipité brut acétate d'éthyle du lot n° 1, ce qui

représente une amélioration par rapport à celui obtenu par la méthode précédente (1 p. 100).

Les eaux mères concentrées n'ont donné que des produits résinifiés sans qu'il soit possible d'en isoler la substance II.

En conclusion, trois substances ont pu être séparées à partir des précipités bruts obtenus dans les extraits acétate d'éthyle des écorces de *Coutarea latiflora*.

La *substance I*, cristallisée, après purification, en tablettes blanc grisâtre, amères, de point de fusion instantané 238°. En chromatographie sur papier, elle donne une tache fluorescente en jaune-vert mat en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,54$. (Solvant de PARTRIDGE.) Elle présente des réactions colorées nettes : avec la lessive de potasse ou de soude : rose orangé virant au rose par dilution et verte avec le perchlorure de fer. Elle existe en proportion beaucoup plus importante dans les écorces du lot n° 3 que dans celles du lot n° 1.

La *substance II*, moins bien définie, a été séparée seulement sous forme d'une poudre rouge amorphe des écorces du lot n° 3. Son point de fusion instantané est de 280° (bloc MAQUENNE). Son R_f est de 0,45 (solvant de PARTRIDGE). Elle présente la même fluorescence aux rayons ultra-violets et les mêmes réactions colorées que la substance I avec la potasse et le perchlorure de fer.

La *substance III*, a été obtenue en petite quantité à partir des écorces du lot n° 1. Elle se présente sous forme d'aiguilles blanches, très amères. Elle ne donne aucune coloration avec les alcalis et le perchlorure de fer et n'est pas décélée en chromatographie sur papier, ni aux UV, ni après pulvérisation des réactifs employés précédemment : potasse alcoolique, perchlorure de fer.

CHAPITRE IV

ETUDE DES SUBSTANCES ISOLEES

Substance I.

Après purification et recristallisation dans le mélange eau-acétone à poids égal, elle se présente sous forme de tablettes prismatiques blanc grisâtre, de saveur amère.

— *Point de fusion* : Il a été déterminé sur le produit cristallisé dans l'eau puis dans l'acétone aqueuse.

Au bloc MAQUENNE, on observe un ramollissement à 177° correspondant à la perte de l'eau de cristallisation. Le point de fusion instantané est : 238°-239°. Le produit recristallisé dans le méthanol fond instantanément, sans ramollissement préalable, à 242°.

Au microscope à point de fusion de REICHERT, on observe la fusion à 236°.

— *Pouvoir rotatoire* : Il est délicat à observer, étant donné la faible solubilité de la substance dans les différents solvants. Pour avoir une déviation sensible, nous avons opéré dans un tube polarimétrique de 5 dm sur une solution eau-acétone (à parties égales) saturée à 20° de la substance ($c = 0,37$ p. 100). La déviation de la lumière polarisée est de $\alpha = -24'$ ($= -0^{\circ}4$).

$$(\alpha) = \frac{\alpha \cdot v}{D \cdot p \cdot l} = \frac{-0,4 \cdot 100}{0,37 \cdot 5} = -21^{\circ}62$$

La solubilité dans l'éthanol étant trop faible (0,07 p. 100), la déviation polarimétrique n'a pu être appréciée dans ce solvant. Quant aux solutions pyridiniques, elles sont colorées en jaune foncé par suite de l'alcalinité de ce solvant, qui ne peut donc être utilisé.

Si la précision du chiffre obtenu est discutable, il est certain que la substance présente un faible pouvoir rotatoire lévogyre.

— La *perte de poids* du produit porté dans le vide en présence d'anhydride phosphorique (20 mm Hg) pendant deux heures à la température d'ébullition du benzène (80°) puis du toluène (110°) a été de : 5,4 p. 100.

— *Solubilités :*

Les cristaux, à la température du laboratoire, sont insolubles dans l'éther de pétrole, le benzène, très peu solubles dans le chloroforme, l'éther (0,006 p. 100), l'eau (0,02 p. 100). Ils sont légèrement solubles dans l'éthanol (0,07 p. 100), l'acétate d'éthyle (0,08 p. 100), l'acétone et le méthanol, plus solubles dans le mélange eau-acétone à parties égales (0,37 p. 100).

Ils sont assez solubles à la température d'ébullition du solvant dans le mélange éther-éthanol et dans l'eau (environ 5 p. 100).

Ils sont très solubles dans la pyridine.

— *Etude en chromatographie sur papier :*

Le R_f a été déterminé dans différents solvants, sur papier ARCHES 301, par la méthode ascendante, le temps de développement étant de 16 heures et la température de $18^\circ \pm 1^\circ$.

On obtient un seul spot jaune-vert dans le visible, à fluorescence brun mat en lumière ultra-violet, coloré en rose orangé après pulvérisation de potasse alcoolique et en brun-vert après traitement par une solution alcoolique de perchlorure de fer à 1 p. 100.

. Dans le butanol acétique (solvant de PARTRIDGE) $R_f = 0,54$.

. Dans le mélange alcool isoamylique, hexane, acide acétique, eau (3,1,3,3,), $R_f = 0,45$.

. Dans l'acide acétique à 15 p. 100, il se forme sur le chromatogramme une traînée allant de la ligne de départ au front du solvant.

— Le *spectre ultra-violet* a été déterminé en solution au cent millième dans l'éthanol à l'aide d'un spectrophotomètre UNICAM S.P. 500 (Fig. 7) :

Maximums : 253 m_μ et 330 m_μ

Minimums : 244 m_μ et 276 m_μ

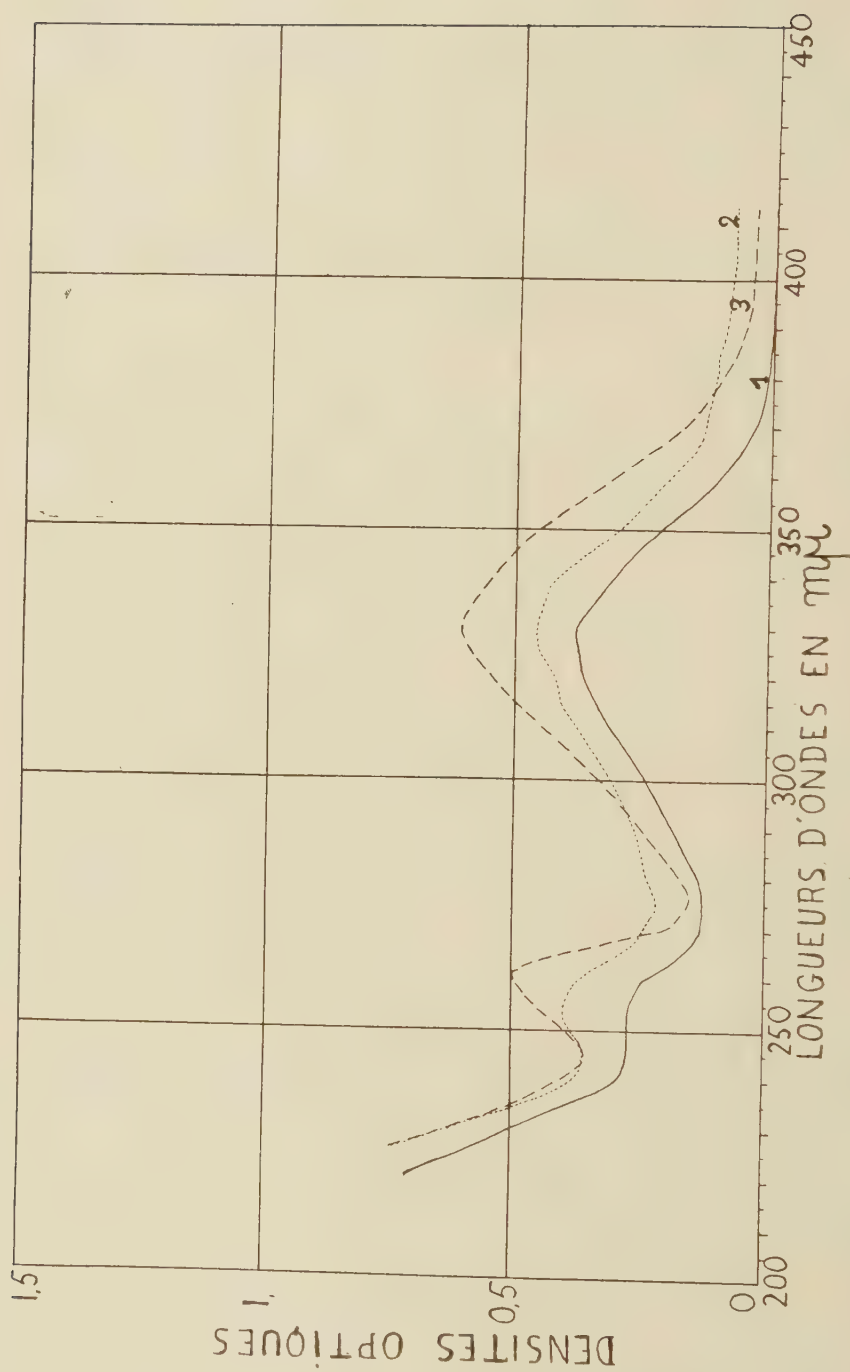


Fig. 7. — Spectre ultra-violet (solution au 1/100.000 dans l'éthanol.)
1) Coutarésine; 2) Substance II; 3) Coutaréagine.

— Le *spectre infra-rouge* a été effectué sur une suspension dans le nujol avec l'appareil de BAIRD. Il existe des bandes d'absorption pour :

3-5,9-6,3-7,7-8,1-8,4-8,6-9,2-9,5-10,1-10,9-11,7-12,1 - 13,9 μ .

— L'*analyse élémentaire* (effectuée sur le produit séché sous pression réduite (20 mm Hg) à 80° pendant deux heures, puis à 110° pendant le même temps) a donné les résultats suivants :

C % = 54,04 %

H % = 5,07 %

O % = 40,89 % (par différence).

D'après la composition centésimale donnée par l'analyse élémentaire, nous proposons pour la substance I la formule :

$C_{22}H_{24}O_{12}$ ou $C_{22}H_{22}O_{11}$, H_2O .

Teneur théorique en :

C % = 55,05 %

H % = 5,04 %

O % = 40,00 %.

— Le *dosage des groupements méthoxy* (méthode de VIEBOCK et BRECHER) indique une teneur de 5,88 p.100 (dans la formule proposée, calculé pour un $OCH_3 = 6,45$ p. 100).

— *Dérivé acétylé* :

Il a été préparé par acétylation par l'anhydride acétique additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique. Après 24 heures à la température du laboratoire, on verse la solution obtenue dans l'eau glacée. Le précipité produit est amorphe et nous n'avons pas pu l'obtenir cristallisé dans l'alcool éthylique à différents titres. Son point de fusion instantané est de 174° (bloc MAQUENNE).

— *Réactions* :

.La solution aqueuse saturée de la substance est légèrement acide et fait virer au vert la solution de bleu de bromothymol.

Les *réactions colorées* suivantes ont toutes été effectuées sur la solution aqueuse du produit.

.Les lessives de potasse et de soude donnent une coloration rose orangé qui vire au rose dans le temps.

Avec le carbonate de sodium à 20 p. 100, la coloration précédente se développe plus lentement.

L'ammoniaque produit une teinte jaune orangé.

.Les acides sulfurique ou chlorhydrique concentrés : coloration jaune à fluorescence verte.

L'acide nitrique dilué au dixième fournit une coloration orangé s'accroissant à chaud.

L'acide nitrique concentré avec le produit anhydre donne une teinte rouge.

Réactions colorées dues à des hydroxyles phénoliques :

.5 ml de solution d'acide sulfanilique à 2 p. 100 dans l'acide acétique sont additionnés de 1 ml de solution de nitrite de sodium à 0,5 p. 100 dans l'alcool à 60°, puis de 1 ml de solution aqueuse saturée de la substance. Il se produit une coloration jaune orangé.

.10 ml de solution aqueuse saturée de produit sont additionnés d'un cristal de ferricyanure de potassium, de 5 gouttes d'acide chlorhydrique concentré et de 5 gouttes de perchlorure de fer à 1 p. 100. Il se forme un très beau précipité bleu de prusse.

.5 ml de solution saturée de substance sont déposés sur une bande de papier ARCHES 301. Après séchage de la tache, on pulvérise une solution de paranitraniline (préparée de la façon suivante (74) : 0,39 g de paranitraniline sont dissous dans 100 ml d'acide chlorhydrique à 8 p. 100. Au moment de l'emploi, 16 ml de cette solution sont additionnés de 1 ml de nitrite de sodium à 5 p. 100). Après séchage à l'air, une solution de carbonate de sodium à 20 p. 100 est pulvérisée. La tache primitive jaune pâle vire au marron.

.La solution alcoolique à 1 p. 100 de perchlorure de fer donne une coloration verte avec la solution alcoolique saturée de substance.

Autres réactions :

.La réaction de la cyanidine déjà décrite est négative, il ne peut donc s'agir d'un dérivé flavonique vrai.

.Le réactif de STIASNY produit un précipité abondant à chaud alors que la solution de gélatine salée ne donne aucun précipité; ceci est en faveur d'une catéchine, mais l'ébullition avec l'acide chlorhydrique concentré ne donne qu'un précipité brun et non rouge comme les catéchines.

.La solution aqueuse saturée du produit ne donne pas de coloration rouge avec la solution de pentachlorure d'antimoine.

La solution aqueuse saturée a des propriétés réductrices à l'ébullition vis-à-vis du nitrate d'argent ammoniacal (production d'argent colloïdal noir) et de la liqueur de FEHLING (formation d'oxydure cuivreux rouge).

Après traitement par l'acide chlorhydrique à 1 p. 100 (p/v) à l'ébullition quelques minutes, neutralisation par le carbonate de baryum et filtration, la solution d'hydrolyse présente des réactions beaucoup plus intenses, en particulier la solution de nitrate d'argent ammoniacal est réduite à froid, de même la

liqueur de FEHLING montre un début de réduction qui s'intensifie à chaud.

La substance I pourrait donc être un hétéroside, ce qui a été recherché par une hydrolyse acide quantitative.

— *Hydrolyse acide.*

0,50 g de substance I purifiée d'une part et 0,50 g de substance I purifiée et recristallisée, d'autre part, sont traités par 50 ml d'une solution d'acide sulfurique à 6 p. 100 (p/v) au bain-marie bouillant pendant quatre heures. Il y a dissolution des substances. Par refroidissement lent, il précipite de fines aiguilles, longues, jaune pâle. Celles-ci sont lavées abondamment à l'eau glacée afin d'éliminer toutes traces d'acide. Elles sont séchées sous vide en présence d'anhydride phosphorique. Les rendements sont pour la substance purifiée de 50 p. 100 et pour la substance I purifiée et recristallisée de 54,4 p. 100.

Après dessiccation sous vide, les aiguilles sont recristallisées par dissolution à l'ébullition dans un minimum d'eau. Par refroidissement, il précipite de très longues aiguilles qui sont séchées sous vide phosphorique et dont le point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) est de : 210°.

Etude des sucres provenant de l'hydrolyse acide.

Les solutions acides provenant de l'hydrolyse précédente sont neutralisées par le carbonate de baryum. Leur pouvoir réducteur est déterminé par la méthode de G. BERTRAND. Les résultats des dosages montrent que la proportion de sucre réducteur exprimé en glucose est respectivement de 15 p. 100 pour la substance I non recristallisée et de 19 p. 100 pour la substance I recristallisée.

Les solutions neutralisées et concentrées de façon à contenir environ 1 p. 100 de sucre réducteur ont été examinées en chromatographie descendante continue sur papier ARCHES 301 sous forme de taches de 10 μ l par comparaison avec des taches de 5 μ l de solutions témoins à 2 p. 100 de glucose, galactose, rhamnose, fructose, xylose et arabinose. Le solvant employé est le mélange de PARTRIDGE. Le développement est poursuivi pendant 40 heures à la température de 20°. La révélation du chromatogramme est faite par immersion dans la solution de benzidine (0,10 g de benzidine, 4 ml d'acide acétique, éthanol Qsp 20 ml). Après séchage du chromatogramme pendant 4 minutes à 100°, il apparaît sur le chromatogramme pour les liqueurs d'hydrolyse des taches de même déplacement que celle donnée par la solution à 2 p. 100 de glucose. (Le développement continu ne

permettant pas la détermination du Rf des substances, on envisage leur déplacement par rapport au glucose pris comme unité, soit :

$$R_g = \frac{\text{déplacement de X}}{\text{déplacement du glucose}}$$

Une osazone a été préparée en ajoutant aux liqueurs d'hydrolyse, neutralisées et concentrées de façon à contenir au moins 1 p. 100 de sucre, de la phénylhydrazine en milieu acétique (0,40 g de chlorhydrate de phénylhydrazine pour 20 ml de solution sucrée). La solution est portée au bain-marie bouillant et laissée ensuite refroidir lentement. Par refroidissement, il apparaît une osazone qui précipite en branches de Genêt, qui, séchée, a un point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 225° proche de celui de la glucosazone (228°-231°).

En conclusion, la substance I est un hétéroside, hydrolysable en glucose et une génine de point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 210°.

Nous proposons pour cet hétéroside qui semble nouveau le nom de *Coutaréoside*.

PROPRIÉTÉS DE LA GÉNINE.

Après purification et recristallisation dans l'eau, elle se présente en longues aiguilles très fines, jaune pâle, de saveur non amère, un peu astringente.

— *Le point de fusion instantané* (bloc MAQUENNE) a été déterminé sur le produit séché sous vide en présence d'anhydride phosphorique à 110°. Il est de 210°. Une nouvelle recristallisation dans le méthanol élève le point de fusion à 213°.

— *Pouvoir rotatoire* : Une solution acétonique à 1 p. 100, examinée dans un tube polarimétrique de 1 dm ne produit aucune déviation de la lumière polarisée.

— *La perte de poids* du produit séché sous vide (20 mm de Hg) en présence d'anhydride phosphorique pendant deux heures à la température d'ébullition du benzène (80°), puis du toluène (110°) a été de : 2,04 p. 100.

— Solubilités :

Les cristaux, à la température du laboratoire, sont insolubles dans l'éther de pétrole, très faiblement solubles dans le benzène, légèrement solubles dans le chloroforme, l'eau (0,01 p. 100), l'éther (0,09 p. 100), plus solubles dans l'acétate d'éthyle

(0,7 p. 100), l'acétone, plus solubles surtout dans le méthanol et l'éthanol.

La solubilité dans l'eau est augmentée à l'ébullition.

Ainsi la génine est plus soluble dans les solvants organiques que le glucoside mais moins soluble dans l'eau.

— *Etude en chromatographie sur papier :*

Le Rf a été déterminé dans le mélange de PARTRIDGE, sur papier ARCHES 301, durée de 16 heures, température de $18^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

On obtient un seul spot de couleur jaune dans le visible, de fluorescence verte assez brillante en lumière ultra-violette et coloré en jaune orangé par la solution de potasse alcoolique à 5 p. 100, en vert par pulvérisation d'une solution de perchlorure de fer à 1 p. 100. Le Rf est de 0,90.

Après développement dans le mélange alcool isoamylique, hexane, acide acétique, eau (3,1,3,3), le Rf est de : 0,75.

— Le *spectre ultra-violet* est déterminé avec l'appareil UNICAM S.P. 500 pour une dilution au cent millième dans l'éthanol (Fig. 7) :

Maximums : 260 $m\mu$ et 330 $m\mu$

Minimums : 244 $m\mu$ et 276 $m\mu$

— Le *spectre infra-rouge* a été examiné sur une suspension dans le nujol avec l'appareil de BAIRD : il existe des bandes d'absorption pour :

3,2-6,1-6,2-7,7-8,1-8,4-8,6-9,2-9,5-10,1-10,9-11,9 - 12,3 - 13,9 μ .

— L'*analyse élémentaire* a été effectuée sur le produit desséché sous vide (20 mm de Hg), deux heures à la température d'ébullition du benzène puis du toluène.

Les résultats ont été les suivants :

C % = 63,66 %

H % = 4,26 %

O % = 32,08 % (par différence).

La formule proposée est : $C_{16}H_{12}O_6$.

La teneur théorique est :

C % = 64,05 %

H % = 4,04 %

O % = 31,91 %

Le *dosage des groupements méthoxy* (méthode de VIEBOCK et BRECHER) indique une teneur de : 10,45 p. 100 (calculé dans la formule pour un OCH_3 = 10,33 p. 100).

— L'*indice d'hydroxyle* est déterminé par la méthode d'acétylation pyridinée. Une prise d'essai de 0,10 g est additionnée de

2 ml de mélange acétylant (une partie d'anhydride acétique, deux parties de pyridine pure), puis le tout est porté au bain-marie bouillant pendant une heure. Après refroidissement et addition d'eau froide, l'excès d'acide est titré par la potasse alcoolique N/2 en présence de phénolphthaléine. La teneur en hydroxyle trouvée dans ces conditions est de 12,8 p. 100.

La teneur calculée pour un hydroxyle dans la formule précédente est de : 5,66 p. 100, pour deux 11,33 p. 100 et pour trois 17 p. 100.

Ces chiffres seraient donc en faveur de trois hydroxyles dans la formule de la génine, dont l'un ne s'acétylerait pas quantitativement.

— Réactions de la génine.

Ces réactions ont été faites sur la solution aqueuse saturée. Celle-ci fait virer au vert la solution de bleu de bromothymol.

Elle donne avec les lessives de potasse et de soude une coloration orangée qui vire très rapidement au rose.

L'ammoniaque et le carbonate de sodium à 20 p. 100 provoquent une coloration jaune.

Avec les acides sulfurique et chlorhydrique concentrés, on obtient une coloration jaune à fluorescence verte plus intense qu'avec le glucoside.

L'acide nitrique concentré donne une coloration rouge fugace qui est accentuée par addition de quelques gouttes d'acide sulfurique.

Réactions colorées des hydroxyles phénoliques :

La solution de génine donne les réactions déjà vues pour le glucoside, mais les teintes obtenues sont beaucoup plus nettes et plus caractéristiques; ainsi, la réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique est rose orangé au lieu de jaune orangé.

Recherche des groupements méthylène dioxy (réaction de LABAT) : 2 ml d'acide sulfurique concentré, additionnés de 5 gouttes d'une solution éthanolique à 5 p. 100 d'acide gallique et de quelques cristaux de génine (1 cg) ne fournissent qu'une coloration jaune-vert. La génine ne renferme donc pas de groupements méthylène dioxy.

Recherche des doubles liaisons :

L'eau de brome ajoutée goutte à goutte à une solution de la substance dans l'acide acétique concentré est faiblement décolorée.

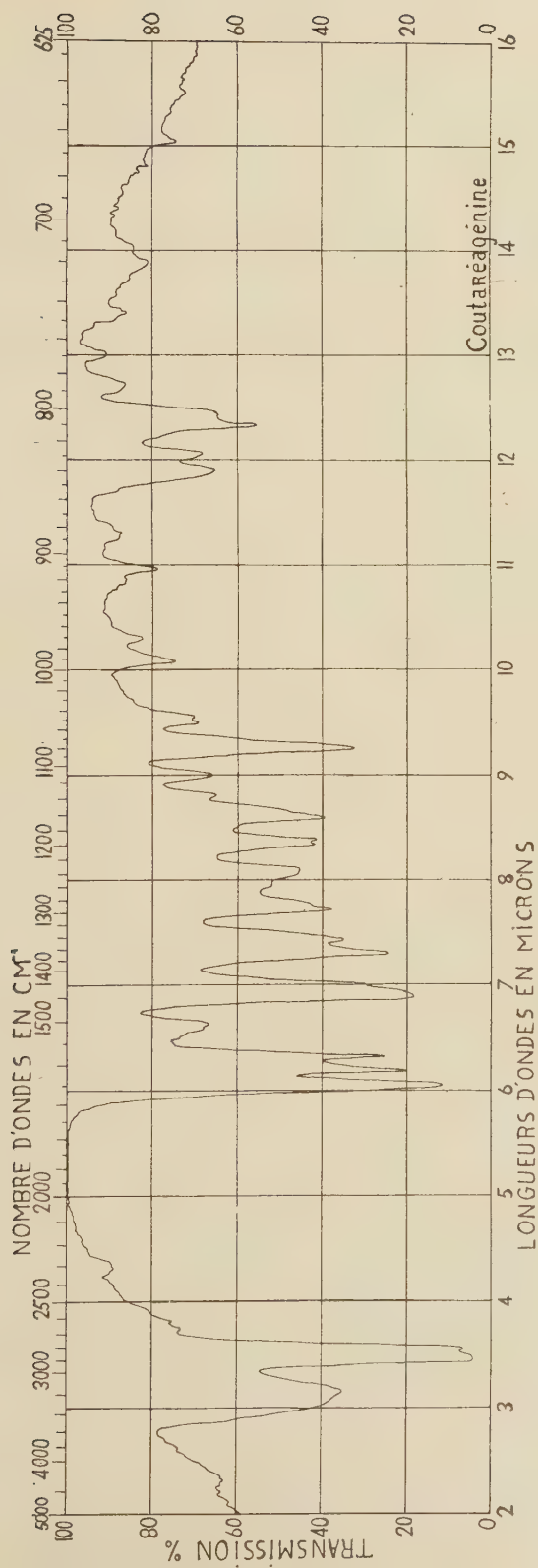


Fig. 8. — Spectre infra-rouge de la *Coutarégénine* en suspension dans le nujol.

Lorsque 2 ml de solution aqueuse sont additionnés d'eau de brome, dès la première goutte, la solution jaune pâle devient jaune foncé. Un léger précipité jaune-brun apparaît qui n'augmente pas avec l'affusion de réactif.

La solution saturée de substance dans l'acide acétique décolore la solution de *permanganate de potassium* N/100.

Lorsqu'on opère en milieu alcalin, la solution de permanganate est décolorée mais la liqueur devient verte, puis brune.

Détermination du pouvoir réducteur, vis-à-vis de :

- la solution de nitrate d'argent ammoniacal, formation d'un précipité jaune, puis noire à l'ébullition, d'argent colloïdal;
- la liqueur de FEHLING est réduite à l'ébullition.

Recherche des fonctions aldéhyde et cétone :

Essai de préparation d'une hydrazone.

5 ml d'une solution éthanolique à 1 p. 100 de la substance à analyser sont additionnés de 5 ml de réactif constitué par 0,1 g de dinitro 2-4 phénylhydrazine, 1 ml d'acide sulfurique concentré et eau en quantité suffisante pour 10 ml.

Au bout de deux heures à la température du laboratoire, il s'est formé un léger précipité colloïdal qu'il n'a pas été possible de recueillir.

Essai de préparation d'une *oxime*.

10 ml de solutions éthanoliques à 0,05 p. 100 du glucoside et de la génine sont additionnés de 5 ml de réactif aqueux contenant 0,05 g d'hydroxylamine et 0,05 g d'acétate de sodium.

Après deux heures au bain-marie bouillant, il se forme dans les deux cas, un précipité cristallin qui augmente par refroidissement. Il se présente sous forme d'aiguilles jaunes rassemblées en oursins qui, lavées à l'eau glacée et séchées, ont un point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 235°-237° (glucoside), et en fines aiguilles ramifiées en branches de Genêt, de point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 200°-205° (génine). Il semble donc que les substances initiales soient retrouvées et non leurs dérivés.

Réactions des tanins ou des catéchines.

La réaction à la gélatine salée est négative, mais le réactif de STIASNY précipite à l'ébullition avec la solution de génine. L'acide chlorhydrique concentré à l'ébullition ne donne qu'un précipité marron. L'épuisement par l'alcool isoamylique fait apparaître une coloration brun-rouge dans l'alcool.

Une solution alcoolique de vanilline additionnée de quelques

gouttes d'acide chlorhydrique concentré ne donne qu'une coloration jaune pâle avec les cristaux de génine.

Réaction des dérivés quinoniques.

Nous avons déjà signalé les colorations oranges, puis rouges de l'infusé hydrolysé avec les lessives alcalines pouvant faire penser à des principes quinoniques.

.5 ml de chloroforme sont saturés de la génine, puis agités avec 1 ml de lessive de potasse qui se colore en jaune orangé, puis en rouge groseille par dilution aqueuse (1 ml d'eau).

.La solution aqueuse saturée de génine donne, au bout de 24 heures, un précipité jaune avec la solution aqueuse d'acétate de nickel à 5 p. 100 et un composé jaune cristallisé en branches de Genêt avec la solution d'acétate de cuivre à 5 p. 100.

Mais ces colorations ne sont pas celles données dans les mêmes conditions par les quinones : bleue, violette ou rouge avec l'acétate de nickel suivant qu'il s'agit d'une benzoquinone, d'une naphtoquinone ou d'une anthraquinone; rouge à rouge violet (naphtoquinone), vert à bleu-violet (benzoquinone) avec l'acétate de cuivre.

D'ailleurs la suspension aqueuse de génine ne provoque pas la libération d'iode au bout de 24 heures à partir d'une solution aqueuse d'iodure de potassium comme le ferait un principe quinonique.

Il s'agirait plutôt de réactions dues aux hydroxyles phénoliques.

Fusion alcaline.

Elle a été faite sur 0,05 g de substance auxquels ont été ajoutés 2,5 g de pastilles de potasse et 2,5 ml d'eau. Le tout a été porté dans un four à moufle à 240° deux minutes, puis à 280° pendant trois minutes. Après refroidissement, le produit de la fusion a été repris par 25 ml d'eau et acidifié par l'acide sulfurique au demi jusqu'à pH 1 environ. La solution acide est extraite par l'éther, qui est ensuite évaporé à sec. Le résidu est dissous dans le minimum de méthanol et examiné en chromatographie ascendante sur papier ARCHES 302 dans le solvant de PARTRIDGE pendant 16 heures.

Deux taches brunes de $R_f = 0,84$ et $R_f = 0,98$ ont été révélées par le réactif à la paranitraniline. Dans les mêmes conditions, le phloroglucinol donne une tache brun-rouge de $R_f = 0,76$.

Une tache de $R_f = 0,84$, colorée en brun-vert est apparue après pulvérisation de perchlorure de fer. Cette tache, qui n'est

pas très intense, pourrait être due à un restant de génine non décomposée.

Les cétones ont été recherchées par le réactif à la dinitro-phénylhydrazine (0,150 g de dinitro 2-4 phényl hydrazine, 25 ml d'acide chlorhydrique concentré et eau distillée en quantité suffisante pour 100 ml). La pulvérisation de ce réactif ne fait pas apparaître de spot bien défini dans ces conditions.

En résumé, la génine, par fusion alcaline ne fournit pas de phloroglucinol, elle n'appartient donc pas à la classe des substances flavoniques vraies ayant des OH en 5 et 7.

Substance II.

Cette substance séparée en très petite quantité des eaux mères du coutaréoside (substance I) est une poudre amorphe, rouge-brun. Examinée en chromatographie sur papier ARCHES 301 et dans le solvant de PARTRIDGE, durée de 16 heures à 18°, elle fournit une tache jaune-vert à fluorescence brune en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,45$, de coloration rose orangé après pulvérisation de potasse alcoolique, et brun-vert avec la solution de perchlorure de fer.

Le point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) est de 280°.

Le spectre ultra-violet a les mêmes maximums et les mêmes minimums d'absorption que celui du coutaréoside (Fig. 7). Elle présente, par ailleurs, les mêmes réactions colorées avec la potasse alcoolique, le perchlorure de fer et en semble donc proche au point de vue constitution.

Le manque de matière première nous a empêchée d'approfondir son étude.

Substance III.

Elle cristallise dans l'éthanol ou l'acétate d'éthyle en très fines aiguilles blanches de saveur très amère.

— Point de fusion peu net : au microscope à point de fusion de REICHERT, 215° à 220°.

— Ces cristaux sont insolubles dans l'éther de pétrole, le chloroforme, l'eau, légèrement solubles dans l'éther, l'acétate d'éthyle, assez solubles dans l'éthanol. Ils sont insolubles dans

la solution de bicarbonate de sodium à saturation mais solubles dans les solutions alcalines, d'où ils sont précipités par acidification (principe lactonique, vraisemblablement).

— La solution alcoolique n'est pas fluorescente en lumière ultra-violet. Cette substance ne présente pas les réactions colorées du coutaréoside, avec les alcalis, les acides, le perchlore de fer. En solution alcoolique, et même à la concentration de 1/10.000, elle ne présente qu'une faible absorption ultra-violet à 230 m μ , décroissant très rapidement.

— Le spectre infrarouge présente des bandes d'absorption pour : 2,9-5,9-8,3-8,6-9,1-9,3-10,8-13,9 μ , donc moins nombreuses que pour le coutaréoside (Fig. 9).

— L'analyse élémentaire a été faite sur le produit desséché sous vide en présence d'anhydride phosphorique (20 mm de mercure) pendant deux heures à la température d'ébullition du toluène (perte de poids : 6,8 p. 100), puis deux heures à celle du xylène (perte de poids : 4,8 p. 100). La perte en eau totale a été de 11,6 p. 100.

Les résultats de l'analyse élémentaire sont :

C % : 60,77 % - 60,92 %

H % : 8,06 % - 8,20 %

O % : 31,17 % - 30,88 % (par différence).

En résumé :

La substance I ou coutaréoside et sa génine diffèrent des substances B et A des auteurs allemands KAISER et GEYER par leur point de fusion, le spectre ultra-violet, le Rf, certaines réactions colorées (cyanidine). Elles ne s'en rapprochent que par les réactions de fluorescence, la coloration orangée avec les alcalis et la fluorescence jaune-vert avec l'acide sulfurique.

Il ne semble pas que les substances isolées soient des flavonoïdes vrais ou des xanthonés (absence de réaction de la cyanidine, spectre ultra-violet nettement différent de celui des xanthonés qui a trois maximums). Il ne paraît pas non plus qu'il s'agisse de chalcones (pas de coloration rouge violacée avec le pentachlorure d'antimoine), ou d'isoflavones dont le spectre ultra-violet n'a qu'un maximum d'absorption.

La coloration jaune orangé en milieu alcalin pourrait faire penser à une benzalcournaranone, mais les vapeurs d'ammoniaque ne donnent pas de coloration rouge et le spectre ultra-violet est également différent.

Nous avons songé également à des naphtoquinones, dont le spectre ultra-violet est voisin (max : 250 - 260 m μ et 330 - 340 m μ). Cependant, le spectre infra-rouge de la coutaréagénine

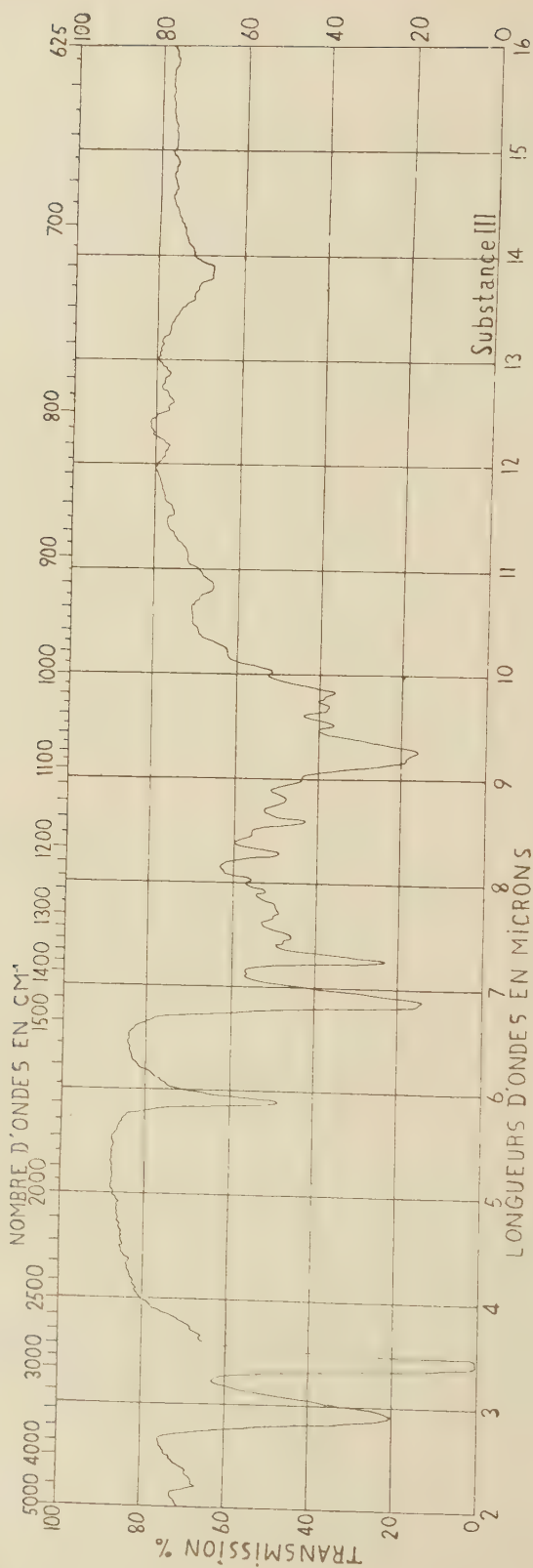


Fig. 9. --- Spectre infra-rouge de la substance III en suspension dans le nujol.

s'il présente bien une bande en 6,1 correspondant au carbonyle, ne montre pas la dépression dans la région 12-14 μ caractéristique des naphtoquinones. Nous avons d'ailleurs vu que les réactions colorées avec l'acétate de nickel et l'acétate de cuivre étaient différentes.

Les chromones donnent certaines réactions analogues avec les alcalis, mais en différent par le spectre ultra-violet qui n'a qu'un maximum.

Le spectre ultra-violet du coutaréoside et de sa génine est proche de celui des coumarines, mais les fluorescences sont jaunes et non bleues ou violacées. On pourrait penser également à des dérivés d'un benzopyrane (catéchine ou leucoanthocyane), mais l'acide chlorhydrique donne une coloration brune et non rouge.

Dans l'état actuel de nos recherches, il ne paraît pas possible, malgré certaines similitudes avec les coumarines, notamment de rattacher le coutaréoside avec certitude à un noyau défini. Il s'agit d'un composé aromatique, possédant au moins deux et sans doute trois hydroxyles phénoliques et un groupement méthoxylé.

Le coutaréoside est donc le monoglucoside d'une génine polyphénolique.

La *substance II*, encore mal définie, semble très proche, peut-être s'agit-il d'un dérivé déméthylé ou plus riche en hydroxyles, en tout cas plus facilement oxydable.

La *substance III* est un principe amer de la drogue. Comme beaucoup de ces substances, il appartiendrait à la série des lactones.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

CHAPITRE PREMIER

TRAVAUX ANTERIEURS SUR COUTAREA LATIFLORA, D.C.

C'est en 1868, pour la première fois semble-t-il, que l'on voit rapporter avec précision par HENKEL (26) l'action fébrifuge d'un « Copalchi » aux écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. Cependant cette drogue peut provoquer des vomissements, des sueurs profuses. Elle serait aussi utilisée en médecine vétérinaire contre l'enflure des chevaux.

MARTINEZ DEL CAMPO (49), en 1904, traite un paludéen présentant un accès fébrile quotidien par prise orale de 5 g d'extrait fluide de « Corteza de Jojutla » (= *Coutarea latiflora*, D.C.) deux fois par jour. Après quatre jours de traitement, la fièvre devient tierce puis disparaît, la drogue étant alors administrée régulièrement tous les 8 à 10 jours.

La même année, ARMENDARIS (2) étudie les effets de la saponine de l'écorce de *Coutarea latiflora*. L'ayant extraite, il la compare à celle de *Saponaria officinalis*. Cette dernière, injectée à la dose de 5 à 8 mg dans le sac lymphatique dorsal de la Grenouille provoque la mort de l'animal, tandis qu'une dose de

100 mg de saponine de *Coutarea latiflora* injectée dans les mêmes conditions reste encore insuffisante pour provoquer la mort. Inhalée à la dose de 10 mg, elle n'a pas plus d'effet sternutatoire qu'une même dose d'une poudre quelconque. D'autre part, une solution aqueuse contenant 100 mg de saponine ingérée par un pigeon, provoque 36 déjections en 7 heures et à l'inverse de la saponine de *Saponaria officinalis*, les selles restent bien formées, non muqueuses et non sanguinolentes. Chez le Chien de 6 kg, 400 mg de saponine provoquent, au bout de dix minutes, un vomissement muqueux et alcalin.

Les premiers, semble-t-il, LANDA (41) puis TERRES (75), en 1913, soulignent l'action bénéfique de l'écorce de *Coutarea latiflora*, D.C. sur le diabète, avec diminution du taux de la glycosurie.

LANDA (41) rappelle l'action fébrifuge de ces écorces dans le paludisme sans avoir observé toutefois d'action sur l'hématozoaire de LAVERAN.

Dans le cas de cirrhose atrophique du foie, il remarque l'action favorable de l'écorce avec augmentation du poids du malade, de la diurèse et diminution du taux d'urobiline.

STANDLEY (72), en 1923, signale l'action fébrifuge des écorces de *Coutarea latiflora*.

Quant à MARTINEZ (50), il rappelle les observations de MARTINEZ DEL CAMPO sur l'action antipaludéenne du *Coutarea latiflora*.

En 1935, BULLOCK (9) note que le *Coutarea latiflora* (transformé par lui en *Hintonia latiflora* ou en *Hintonia standleyana*, voir page 34) est utilisé comme fébrifuge dans la malaria, les affections pulmonaires et le mal de Pinto (maladie se traduisant par des variations de pigmentation des parties glabres de la peau, à l'exclusion des articulations et causée par *Treponema carateum*). Il rapporte également que, selon HINTON, les feuilles bouillies sont utilisées en bain dans le même mal et en macération dans la malaria.

En 1947, GUERRA (20) étudie l'action antidiabétique des écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. sans remarquer d'effets sensibles sur la glycémie normale et l'hyperglycémie provoquée par le glucose chez le Lapin. Les doses utilisées sont : 1 ml d'extrait fluide par kg, administré par sonde gastrique. L'hyperglycémie est provoquée par 2 g de glucose par kg (voie orale).

KAISER et GEYER (39), en 1955, reprennent des expériences analogues chez le Lapin avec un extrait hydroalcoolique au demi d'écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. Ils enregistrent, après administration par voie buccale d'une dose de 5 g d'écorces, par

animal de 2 à 3 kg, une très faible baisse de la glycémie. Chez le Lapin en état d'hyperglycémie provoquée (glucose par voie intraveineuse), les résultats sont plus nets : l'extrait fluide de *Coutarea latiflora*, D.C. abaisse l'hyperglycémie provoquée et raccourcit sa durée. Chez ces animaux, la valeur de la glycémie par 100 ml de sang est abaissée de 15 mg après 50 minutes et, respectivement, de 19 et 27 mg après 80 et 125 minutes.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS

— Toxicité aiguë chez la Souris.

a) *Ecorces.*

La toxicité a été déterminée sur des teintures d'écorces des trois lots.

Après macération des écorces pulvérisées trois jours à l'étuve à 37° dans 5 parties d'alcool à 60°, les liqueurs sont filtrées puis concentrées afin d'éliminer la plus grande partie de l'alcool et d'obtenir une préparation de titre alcoolique inférieur à 20°. 1 ml de teinture correspond à 2 g de plante.

Les animaux traités sont des lots de 5 souris d'un poids moyen de 20 g auxquelles des doses croissantes de substance sont injectées par voie sous-cutanée.

Les résultats obtenus pour les différents lots sont les suivants :

— Lot n° 1 : la mortalité est de 5 souris sur 5 après 48 heures, pour une dose de 10 g d'écorces par kilogramme d'animal et nulle pour les doses de 2,5 g et 5 g/kg. Les animaux ont tous montré une phase d'excitation accompagnée de démangeaisons intervenant 10 à 20 minutes après l'injection.

— Lot n° 2 : pour un premier essai, la mortalité a été nulle avec des doses de 5 g/kg, 7,5 g/kg et 10 g/kg.

Dans un deuxième essai, la dose de 10 g/kg a provoqué, après

trois jours, la mort des cinq animaux, celle de 7,5 g par kg a été bien tolérée.

Une troisième expérience a été faite. Une seule mort a été observée pour la dose de 10 g/kg, les autres doses étant bien supportées.

Dans tous les cas, une phase d'excitation avec démangeaisons a été remarquée 15 minutes environ après l'administration du produit. Huit jours après le traitement, il est apparu, pour tous les animaux, une escarre au point d'injection, plus étendue avec la dose de 10 g/kg.

— Lot n° 3 : à la dose de 10 g/kg, la mortalité a été de deux souris au bout de 24 heures, puis d'une autre après 48 heures. Tous les animaux ont présenté la phase d'excitation avec démangeaisons déjà signalée.

b) *Coutaréoside* : une suspension aqueuse à 2 p. 100 contenant 4 p. 100 de gomme arabique est injectée par voie sous-cutanée.

Quatre lots de 5 souris reçoivent la substance aux doses croissantes de 2,5 g, 5 g, 7,5 g, et 10 g/kg.

La mortalité est de 5 souris sur 5 (3 au bout de 24 heures puis 2 tardives) pour une dose de 10 g de glucoside par kilogramme, les autres doses sont bien supportées.

Les animaux présentent une phase d'excitation avec démangeaisons, 10 minutes environ après l'injection.

La dose de 5 g/kg ingérée à l'aide d'une sonde gastrique est parfaitement tolérée.

Les écorces de *Coutarea latiflora* possèdent donc une toxicité assez faible chez la Souris par voie sous-cutanée. Le coutaréoside est très peu toxique puisqu'il est parfaitement toléré à la dose de 5 g/kg, tant par la voie orale que par la voie sous-cutanée.

— Pouvoir hypoglycémiant chez le Lapin.

Action des écorces de Coutarea latiflora sur la glycémie normale du Lapin.

L'essai est pratiqué sur cinq lapins mâles, à jeun depuis vingt heures. La glycémie initiale est déterminée par la macro méthode de HAGEDORN et JENSEN. Un quart d'heure après le premier dosage, deux lapins reçoivent la drogue par voie buccale à l'aide d'une sonde œsophagienne à raison de 2,5 g/kg sous forme d'une solution préparée par macération d'une poudre demi-fine dans cinq parties d'alcool à 60°. La teinture ainsi faite est concentrée

afin d'éliminer l'alcool et d'obtenir une préparation correspondant à 2,5 g de plante par kg. Les trois autres lapins servant de témoins reçoivent dans le même temps 5 ml d'eau distillée par kg. Une première série de prélèvements par ponction cardiaque et de dosages est effectuée une demi-heure après l'ingestion de la drogue, puis au bout d'une heure et de deux heures.

Les résultats sont les suivants (Fig. 10) :

Animal N°	45	50	46	43	47
Poids (en g.)	2700	2500	2400	2200	2600
<i>Animaux traités</i>			<i>Animaux témoins</i>		
Glycémie initiale en g./l					
au To	1,12	1,06	0,90	0,91	1,19
<i>Administration de la drogue</i>			<i>Administration d'eau distillée</i>		
To + 1/2 h.	1,30	1,22	1,06	1,14	1,12
To + 1 h.	1,30	1,18	1,15	1,15	1,34
To + 2 h.	1,05	1,12	1,14	1,02	1,20

Moyenne des résultats :

	<i>Animaux traités</i>	<i>Animaux témoins</i>
To	1,09	1
To + 1/2 h.	1,26	1,10
To + 1 h.	1,24	1,21
To + 2 h.	1,08	1,12

Résultats : Après administration de la drogue, dans ces conditions, on ne constate donc pas d'hypoglycémie; il y a même dans la plupart des cas, aussi bien chez les animaux traités que chez les animaux témoins, une légère hyperglycémie transitoire (peut-être d'origine traumatique, due à la sonde œsophagienne). N'ayant pas obtenu, à la dose indiquée, d'effet sur la glycémie normale, nous avons alors essayé l'extrait de *Coutarea latiflora* sur l'hyperglycémie expérimentale.

Action des écorces de Coutarea latiflora sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose chez le Lapin.

Dans cette série d'expériences, la drogue est administrée une heure avant le glucose, en raison du temps de latence dans l'action de la plante. L'essai est pratiqué sur un lot de six lapins : trois reçoivent la drogue par sonde œsophagienne, à raison de 2,5 g/kg, sous forme de solution préparée comme dans l'essai précédent, les trois autres animaux servant de témoins reçoivent 5 ml d'eau distillée par kilogramme. Une heure après, on procède à une première série de prélèvements qui donne la glycémie au temps To, puis on fait ingérer aux six lapins par

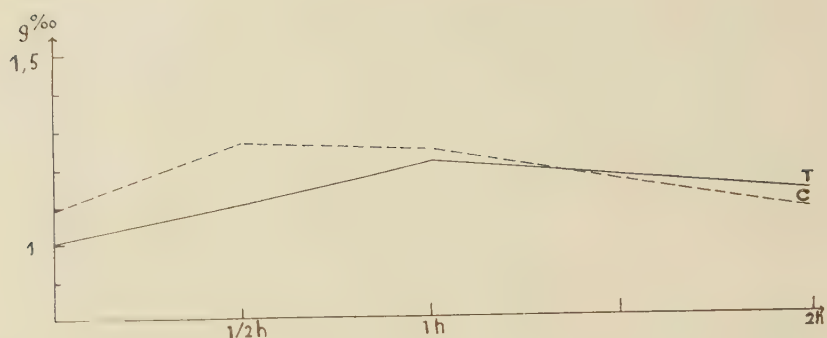


Fig. 10. — Action par voie buccale des écorces de *Coutarea latiflora*, sur la glycémie normale du Lapin. — En abscisse : temps d'expérience; en ordonnée : pouvoir réducteur exprimé en glucose par litre de sang. — T : animaux témoins; C : animaux traités.

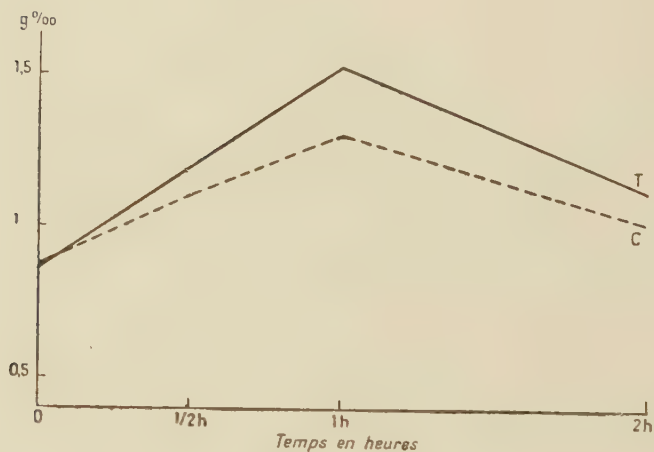


Fig. 11. Action par voie buccale des écorces de *Coutarea latiflora*, sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin (glucose administré par la voie orale). — En abscisse : Temps d'expérience; en ordonnée : pouvoir réducteur exprimé en glucose par litre de sang. — T : animaux témoins; C : animaux traités.

sonde œsophagienne, le glucose en solution à 50 p. 100 à raison de 1 g/kg; après une demi-heure, des prélèvements sont effectués, puis au bout d'une heure et de deux heures.

Les résultats montrent que la moyenne des pourcentages de baisse de glycémie par rapport aux témoins est, au plus, de 15 p. 100 (Fig. 11).

Animal N°	43	45	44	11	X	50
Poids (en g.)	2100	2800	3000	3300	3700	2500
<i>Animaux traités</i>				<i>Animaux témoins</i>		
<i>Administration de la drogue</i>				<i>Administration d'eau distillée</i>		
<i>Une heure avant To</i>						
To	0,88	0,84	0,90	1,03	0,80	0,89

Administration du glucose : 1 g/kg.

To + 1/2 h.	0,95	1,15	1,21	1,45	0,80	1,32
To + 1 h.	1,10	1,38	1,33	1,98	1,29	1,20
To + 2 h.	1,04	1,07	0,94	1,19	1,23	1,04

Moyenne des résultats :

	<i>Animaux</i>		<i>Pourcentages de baisse des glycémies par rapport aux témoins</i>
	<i>traités</i>	<i>témoins</i>	
To	0,87	0,90	
To + 1/2 h.	1,10	1,19	8 %
To + 1 h.	1,27	1,49	15 %
To + 2 h.	1,01	1,10	8 %

L'action du *Coutarea latiflora* sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose administré par la voie buccale pouvait être attribuée précédemment à une diminution d'absorption du glucose par la muqueuse digestive. Pour tenir compte d'une telle possibilité, dans l'expérience suivante, le glucose a été injecté par voie intraveineuse (veine marginale de l'oreille) à la dose de 0,4 g/kg (solution à 30 p. 100 de glucose). Le maximum d'hyperglycémie étant atteint plus rapidement par voie intraveineuse, les prélèvements sont faits toutes les vingt minutes pendant une heure vingt.

Les résultats ci-dessous (Fig. 12) montrent qu'en moyenne le pourcentage de baisse de glycémie est, au plus, de 20 p. 100 inférieur à celui des témoins.

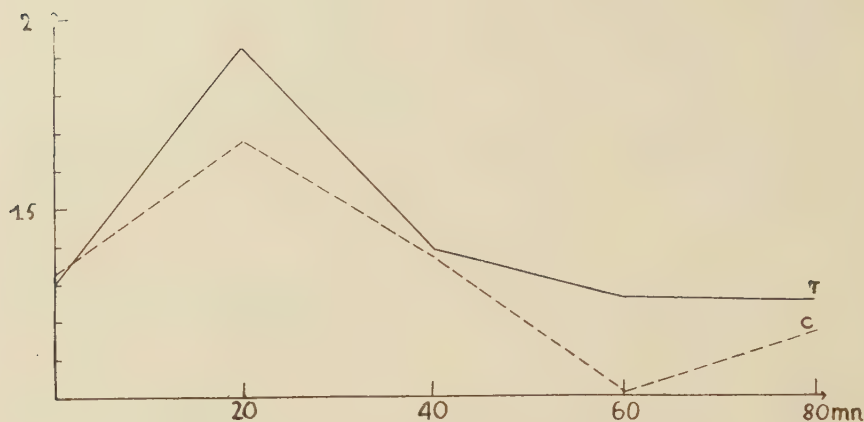


Fig. 12. — Action par voie buccale des écorces de *Coutarea latiflora*, sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin (glucose administré par la voie intra-veineuse). — En abscisse : Temps d'expérience; en ordonnée; pouvoir réducteur exprimé en glucose par litre de sang. — T : animaux témoins; C : animaux traités.

Animal N°	51	55	54	47	48	45
Poids (en g.) ..	2300	2000	2000	2000	1800	2100
Glycémie initiale g./l au To..	1,14	1,07	1,18	1,10	1,13	1,04

<i>Animaux traités</i> <i>Administration de la drogue</i>				<i>Animaux témoins</i> <i>Administration d'eau distillée</i>		
Glycémie g./l :						
To + 1 h.	1,20	1,20	1,60	1,28	1,29	1,33
<i>Administration de glucose : Voie intra-veineuse</i>						
To + 1 h. 20 ..	1,63	1,60	1,83	1,96	1,84	1,97
To + 1 h. 40 ..	1,25	1,33	1,53	1,49	1,29	1,41
To + 2 h.	0,98	1	1,05	1,33	1,16	1,28
To + 2 h. 20 ..	1,13	1,15	1,25	1,34	1,22	1,19

Moyenne des résultats :

Animaux		Pourcentage de baisse de glycémie par rapport aux témoins	
	traités	témoins	
To	1,13	1,09	
To + 1 h.	1,33	1,30	
To + 1 h. 20	1,68	1,92	12 %
To + 1 h. 40	1,37	1,39	1 %
To + 2 h.	1,01	1,26	20 %
To + 2 h. 20	1,17	1,25	6 %

Les résultats sont donc analogues aux précédents.

Action du coutaréoside sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose chez le Lapin.

Ce glucoside étant faiblement soluble dans l'eau et dans l'alcool de faible titre, est administré sous forme d'une suspension aqueuse obtenue grâce à la gomme arabique, ce qui permet une meilleure absorption de la substance par l'animal. Cette suspension est préparée en triturant 0,10 g de glucoside avec 0,500 g de gomme en présence d'une quantité suffisante d'eau distillée pour obtenir 20 ml de liquide homogène. Le coutaréoside est donc administré à raison de 0,01 g/k sous forme de 2 ml de suspension gommeuse de même concentration. L'administration a lieu deux heures avant l'ingestion de glucose.



Fig. 13. --- Action du coutaréoside par voie buccale sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin (glucose administré par la voie orale).

En abscisse : Temps d'expérience;
en ordonnée : pouvoir réducteur exprimé en glucose par litre de sang.

T : animaux témoins; C : animaux traités, par une seule dose de coutaréoside.

Animal N°		94	92	91	93	85
Poids (en g.)	..	2400	2300	2300	2100	2300
<i>Animaux traités</i>				<i>Animaux témoins</i>		
Deux heures avant To :						
<i>Administration du glucoside + excipient</i>				<i>Administration de l'excipient</i>		
Glycémies g./l To		1,46	1,39	1,47	1,46	1,47

Administration du glucose : 1 g/kg.

To + 1/2 h.		1,82	1,84	1,96	2,30	2,52
To + 1 h.		2,20	1,83	2,40	1,77	2,24
To + 2 h.		1,69	1,56	1,96	1,55	1,68

Moyenne des résultats :

	<i>Animaux</i>		<i>Pourcentage de baisse de glycémie par rapport aux témoins</i>
	<i>traités</i>	<i>témoins</i>	
To	1,44	1,46	
To + 1/2 h.	1,87	2,41	22 %
To + 1 h.	2,14	2	0 %
To + 2 h.	1,73	1,61	0 %

Les résultats montrent que l'hyperglycémie n'est pas sensiblement empêchée sous l'influence du coutaréoside, mais qu'elle semble plutôt retardée, les valeurs maximales de glycémie étant atteintes une demi-heure plus tard chez les animaux traités que chez les témoins (Fig. 13).

C'est pourquoi nous avons essayé par la suite de prolonger et renforcer cette action par une deuxième administration de coutaréoside (0,01 g/kg) au cours de l'expérience, une demi-heure après l'ingestion du glucose.

Dans ces conditions, les résultats montrent (Fig. 14) que sous l'influence du coutaréoside, l'hyperglycémie est, non seulement retardée, mais nettement diminuée.

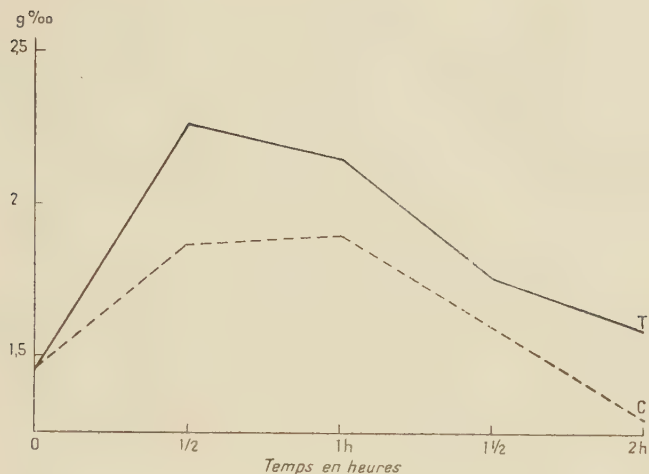


Fig. 14. — Action du coutaréoside par voie buccale sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin. — C : animaux traités par deux doses successives de coutaréoside.

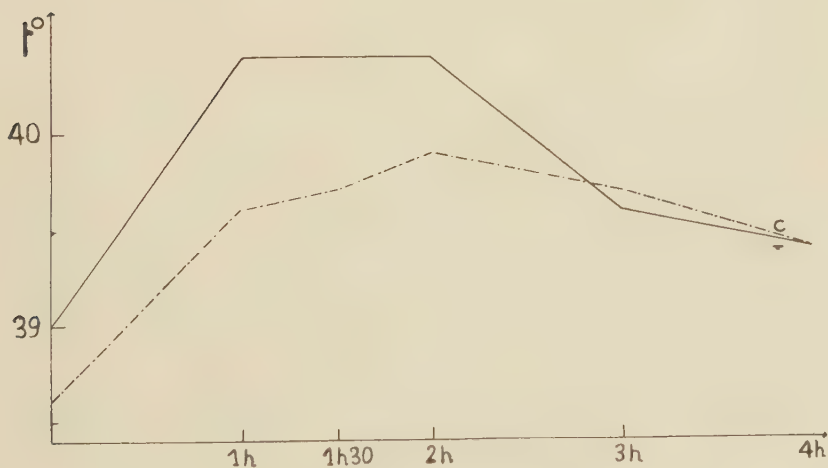


Fig. 15. — Pouvoir hypothermisant des écorces de *Coutarea latiflora*. (Voie sous-cutanée chez le Lapin.) — En abscisse : Temps d'expérience; en ordonnée : températures.
T : animaux témoins; C : animaux traités.

Animal N°	94	92	91	93	85
Poids (en g.)	2400	2400	2300	2100	2200
<i>Animaux traités</i>				<i>Animaux témoins</i>	
Deux heures avant To					
Administration du glucoside + excipient				Administration de l'excipient	
Glycémies g./l To	1,34	1,54	1,51	1,37	1,54
Administration du glucose : 1 g/kg. Voie orale.					
To + 1/2 h.	1,57	1,88	2,17	2,28	2,24
Administration du glucoside + excipient				Administration de l'excipient	
To + 1 h.	2,04	2,02	1,65	2,05	2,26
To + 1 h. 30	1,54	1,78	1,48	1,63	1,89
To + 2 h.	1,30	1,32	1,29	1,54	1,64
Moyenne des résultats :					
<i>Animaux</i>			<i>Pourcentage de baisse de glycémie par rapport aux témoins</i>		
	<i>traités</i>	<i>témoins</i>			
To	1,46	1,45			
To + 1/2 h.	1,87	2,26		15 %	
To + 1 h.	1,90	2,15		11 %	
To + 1 h. 30	1,60	1,76		9 %	
To + 2 h.	1,30	1,59		18 %	

— Pouvoir hypothermisant chez le Lapin.

Les écorces de *Coutarea latiflora*, D.C. ayant été à maintes reprises citées et utilisées comme fébrifuge, nous avons examiné leur action ainsi que celle du coutaréoside vis-à-vis de l'hyperthermie provoquée chez le Lapin. La substance hyperthermisante employée dans cette expérience est l'étalon international de substances pyrogènes ou antigène somatique O purifié de *Shigella dysenteriae* (58).

La dose de substance pyrogène utilisée est : 0,015 γ par kilogramme, en solution dans 5 ml d'eau distillée. L'Office Mondial de la Santé (58) dans ses rapports techniques indique un seuil de réponse hyperthermique chez le Lapin pour 0,003 γ d'antigène par kilogramme. Trois lapins ayant reçu cette dose présentaient respectivement une élévation de température de 0°4, 0°5 et 1°1. Aussi avons-nous préféré injecter une dose de substance pyrogène cinq fois plus importante et qui donne chez l'animal des élévations de température de l'ordre de 1°5.

Les températures sont enregistrées à l'aide d'une sonde rectale, constituée par un couple thermoélectrique relié à un galvanomètre. Un spot lumineux se déplace sur un cadran gradué en degrés et dixièmes de degrés centigrades.

Les lapins sont à jeun depuis douze heures et gardés deux heures au repos. Le produit à étudier n'est administré qu'au moment où la température des animaux reste constante : (To a).

1) *Ecorces.*

Au temps To, trois lapins reçoivent en injection sous-cutanée 2,5 g d'écorces par kilogramme sous forme d'une solution préparée par macération d'une poudre fine d'écorces dans cinq parties d'alcool à 60° pendant quatre jours à 37°. La teinture ainsi obtenue est filtrée et évaporée jusqu'à ce que la solution aqueuse restante corresponde à 2 g de plante par ml. Un quatrième lapin sert de témoin. Un quart d'heure après l'administration de la drogue, les températures sont enregistrées (To b) et la substance pyrogène est injectée dans la veine marginale de l'oreille de tous les animaux. Les températures sont ensuite relevées au bout d'une heure, 1 h. 30, 2 h., 3 h. et 4 h.

Les résultats (Fig. 15) sont les suivants :

Animaux N°	6	4	11	1
Poids	2950	2500	3300	2660
<i>Animaux traités</i>				<i>Animal témoin</i>
To (a)	39°1	38°	38°7	39°
<i>Administration de la drogue. Voie S/C.</i>				
To (b)	39°	38°2	38°6	39°
<i>Administration de la substance pyrogène :</i>				
To + 1 h.	40°1	39°4	39°4	40°4
To + 1 h. 30	39°8	39°5	39°8	40°4
To + 2 h.	40°4	39°6	39°9	40°4
To + 3 h.	40°3	39°5	39°4	39°6
To + 4 h.	40°	39°1	39°2	39°4

Moyenne des résultats :

	<i>Animaux traités antigène + drogue</i>		<i>Témoin antigène</i>
To + 1 h.	39°6		40°4
To + 1 h. 30.	39°7		40°4
To + 2 h.	39°9		40°4
To + 3 h.	39°7		39°6
To + 4 h.	39°4		39°4

L'animal témoin ayant à l'origine une température plus élevée (0°4) que les animaux en expérience, l'abaissement est donc au plus de 0°4 sous l'influence de la drogue.

2) Coutaréoside.

Au temps T_0 , trois lapins reçoivent par sonde œsophagienne 0,01 g de coutaréoside par kilogramme sous forme d'une suspension aqueuse stabilisée par de la gomme arabique. Deux animaux reçoivent, par la voie sous-cutanée, la même dose de glucoside en suspension dans l'eau distillée. Quatre autres lapins servent de témoins. Un quart d'heure après l'administration de la drogue, les températures sont enregistrées et la substance pyrogène est injectée comme dans l'expérience précédente.

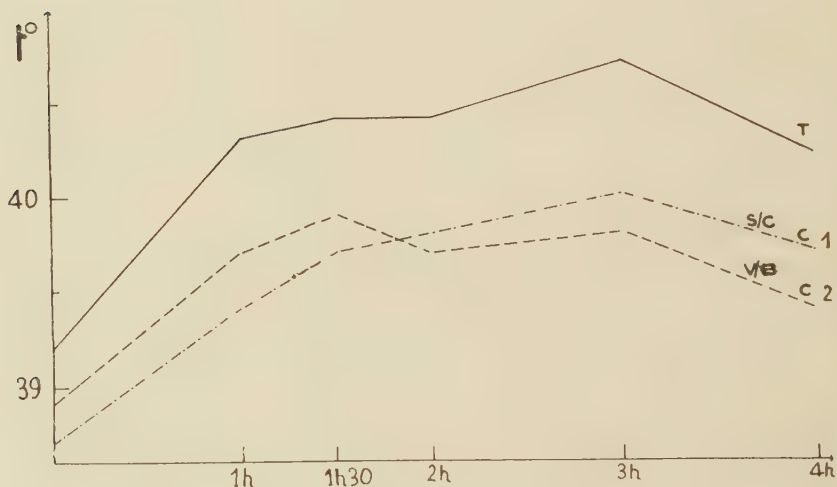


Fig. 16. Pouvoir hypothermisant du coutaréoside chez le Lapin.

T : animaux témoins.

1 : administration du coutaréoside par la voie sous-cutanée.

2 : administration du coutaréoside par la voie buccale.

Les résultats (Fig. 16) sont les suivants :

Animaux N°	69	44	54	53	61	57	66	67	68
Poids . . .	2450	2100	1600	1600	2400	2100	2200	2100	2300

Animaux traités
Administration de la drogue

Animaux témoins

Voie buccale | *Voie sous cutanée*

To	38°8	39°1	38°9	38°8	38°7	39°3	39°1	39°5	39°1
--------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Administration de la substance pyrogène.

To + 1 h.	39°7	39°7	39°8	39°4	39°4	40°2	40°2	40°5	40°4
To + 1 h. 30 . . .	40°1	39°8	40°	39°7	39°8	40°4	40°7	40°	40°5
To + 2 h.	39°6	39°5	40°2	39°9	39°7	40°8	40°5	40°	40°4
To + 3 h.	39°8	39°6	40°2	39°8	40°3	41°2	40°8	40°3	40°6
To + 4 h.	39°5	39°1	39°8	39°4	40°1	40°5	40°3	39°7	40°2

Moyenne des résultats :

1 — Animaux traités par Voie buccale		Témoins
Température initiale : To	38°9	39°2

Administration de la substance pyrogène.

To + 1 h.	39°7	40°3
To + 1 h. 30	39°9	40°4
To + 2 h.	39°7	40°4
To + 3 h.	39°8	40°7
To + 4 h.	39°4	40°2

2 — Animaux traités par Voie sous-cutanée

To	38°7	39°2
--------------	------	------

Administration de la substance pyrogène.

To + 1 h.	39°4	40°3
To + 1 h. 30	39°7	40°4
To + 2 h.	39°8	40°4
To + 3 h.	40°	40°7
To + 4 h.	39°7	40°2

D'après le tableau précédent, on constate que la température moyenne des animaux traités est abaissée au maximum de 0°6 par rapport à celle des témoins (dont la température moyenne initiale était plus élevée de 0°3) quelle que soit la voie d'administration, mais cet abaissement est obtenu au bout d'une heure par la voie sous-cutanée, et de trois heures par la voie buccale.

Le coutaréoside possède donc une légère action hypother-

misante chez le Lapin, pouvant justifier en partie la réputation fébrifuge de la drogue.

D'autre part, nous avons noté précédemment la faible toxicité de la drogue et du coutaréoside chez la Souris.

Si le *Coutarea latiflora* s'est montré sans action nette sur la glycémie normale chez le Lapin, sur l'hyperglycémie provoquée par administration de glucose par voie orale ou intraveineuse, il provoque une baisse de 15 à 20 p. 100 par rapport au témoin. Le coutaréoside semble être, tout au moins en partie, responsable de cette action.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DU CROTON NIVEUS, JACQ (Copalchi blanco).



ETUDE BOTANIQUE

CHAPITRE PREMIER

LE GENRE CROTON ET L'ESPECE CROTON NIVEUS, JACQ

Le genre *Croton*, créé par LINNÉ (45) en 1737, appartient à la famille des Euphorbiacées, sous-famille des Crotonoïdées, tribu des Crotonées; celle-ci est caractérisée par des carpelles uniovulés, des fleurs mâles et femelles distinctes, des étamines courbées en dedans avant l'anthèse puis dressées.

D'après l'INDEX KEWENSIS et ses suppléments, le genre *Croton* renferme plus de 1.200 espèces dont la grande majorité, plus de 800, se trouve en Amérique (88 au Mexique), les autres étant réparties en Afrique, Asie et Océanie.

Le *Croton niveus* fut décrit pour la première fois par JACQUIN (31), en 1760, parmi des plantes d'Amérique nouvellement reconnues. JACQUIN note alors l'aspect des feuilles, ovales, cordées, dentelées, tomenteuses en dessous, et en 1763 donne la diagnose de la plante :

« *Croton (niveum) foliis ovato-cordatis, serrulatis, subtilus tomentoso-nitidis.*

Frutex decempedalis, erectus, in omnibus suis partibus odore aromatico gratoque praedibus. Folia sunt ex ovato cordata, acula, serrulata, facie viridia, subtus tomento argenteo nitidoque vestita,



Fig. 17. — *Croton niveus* Jacquin (= *Croton pseudochina* Schlecht).
(NEES von ESENBECK, *Plantae Medicinales*, Atlas, 1833, 22-23.)

1. Bourgeon grossi; 2. Fleur femelle très grossie; 3. Ovaire surmonté du pistil; 4. Pistil; 5. Coupe de l'ovaire; 9. Etamines; 10. Fleur mâle; 11. Sépales vus de dos, vus de l'intérieur; 12. Graine; 13. Une partie du fruit vue de face et de dos; 14. Axe du fruit sans les loges; 15. Poils que l'on voit sur les feuilles, très grossis.

(Réduction aux 4/7 de l'original)

magnitudine valde varia. Spicae densae, pollicares, onustae masculis plurimis foeminisque infra mares vel interdum iisdem immitis paucissimis. Calyx tomentosus, colore subferrugineo. Corolla candida. Styli tres, ramosi, longitudine germinis, idemque reflexi toti arcte amplexantes. Ante foliorum ortum solent flores prodire omnium numerosissimis; caducique mares postea subjectum solum niveo candore operiunt.

Habitat Carthagenae in sylvaticis. »

Croton niveus feuilles ovales cordées, dentelées, à tomentum blanc en dessous.

Arbuste de dix pieds (3,30 mètres), dressé, caractérisé par une agréable odeur aromatique. Les feuilles sont ovales cordées, pointues, dentelées, à face verte, revêtues par dessous d'un tomentum argenté et brillant, de dimensions très variables. Les grappes sont denses, avec de nombreuses fleurs mâles et des fleurs femelles en plus petit nombre. Le calice est tomenteux de couleur brun ferrugineux. La corolle est blanche. Styles au nombre de trois, ramifiés, retombant sur l'ovaire et l'ensérant. La plupart des fleurs éclosent habituellement avant la naissance des feuilles; et les fleurs mâles caduques couvrent ensuite le sol d'une blancheur de neige.

Cette espèce se rencontre dans les forêts de Carthagène.

En 1830, SCHLECHTENDAL (70 bis) décrit la plante comme une espèce nouvelle sous le nom de *Croton pseudochina* et donne la diagnose suivante :

Croton pseudochina. Feuilles légèrement cordées, ovales acuminées, obtuses, 3-5 nervures en dessous, argentées par leurs écailles. Monoïques : toutes les fleurs ont cinq sépales, cinq pétales, les fleurs mâles ont dix étamines. Les capsules ont des écailles squameuses. Les feuilles sont grandes, 11 cm de long, 8 cm de large. Les écailles sont en forme de bouclier rond, dont le centre est parfois de couleur brun ferrugineux et le bord lacinié ou incisé. Les pétales sont poilus à l'intérieur et davantage sur les bords.

L'INDEX KEWENSIS donne l'antériorité au nom *Croton niveus* créé par JACQUIN et fait du *Croton pseudochina*, Schlechtendal un synonyme.

NEES VON ESENBECK (57), en 1833, puis HAYNE (24) en 1843, complètent la diagnose de la plante accompagnée d'une très belle iconographie (Fig. 17).

D'après la description de HAYNE, le *Croton niveus*, Jacq. se présente comme un petit arbre de 4 à 5 mètres de haut, à branches alternes assez denses, de couleur gris-brun et presque lisses, les jeunes branches étant de couleur chocolat clair, de même que les pétioles. Les feuilles sont alternes, à pétioles de 1,5 cm

à 3 cm de long, à nervures saillantes à la face inférieure, recouvertes d'écailles argentées très nombreuses. Les feuilles ont de 3 cm à 8 cm de long sur 1,5 cm à 7 cm de large. Elles sont de consistance presque coriace avec des points à demi transparents. Les fleurs sont groupées en grappe de 6 cm de long, simple et axillaire, entourée de bractées courtes, ovales, persistantes, celles-ci sont comme les pétioles tachetées d'écailles argentées. Les fleurs mâles sont en très grand nombre avec un calice divisé en cinq parties. La préfloraison est valvaire. Les divisions du calice sont largement ovales, concaves, avec un bord plus mince parcheminé. Les pétales sont blancs, elliptiques, poilus à l'intérieur, de la grosseur des divisions du calice et alternant avec lui. Dix à quinze étamines poilues sont insérées à la base du calice ainsi que cinq appendices glanduleux opposés aux divisions du calice. Les filets sont en forme d'âlène, libres et très poilus à la base. Les anthères ont deux loges terminales, ovales arrondies, s'ouvrant à l'intérieur, repliées dans le bourgeon, le connectif est brun et les loges blanches. Les fleurs inférieures de la grappe sont femelles et diffèrent des fleurs mâles par un pédoncule un peu plus long et par l'organe sexuel : l'ovaire arrondi, trifurqué, à trois loges uniovulées. L'ovule est pendant. Un disque, portant l'ovaire, se développe à la base du calice. Le style porte trois stigmates fourchus. La capsule comporte trois loges arrondies triangulaires, chacune contenant une graine de 2 mm de diamètre, recouverte d'écailles petites et argentées. Les loges s'ouvrent par deux valves parcheminées, à face externe ligneuse. Les graines pendantes ont un tégument brun-jaune.

Au cours de l'étude des « Copalchis », de nombreux auteurs ont repris la description du *Croton niveus*, Jacq. sans apporter de nouvelles précisions sur la plante : AREVALO (1), STANDLEY (72), MARTINEZ (48), KAISER et GEYER (37).

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS

1) Etude morphologique.

DESCRIPTION DES ÉCHANTILLONS.

Nous n'avons reçu qu'un seul lot de cette espèce, envoyé en 1956 sous le nom « Copalchi » par le Docteur Y. Gral Demetrio Mayoral Pardo, Officier du Secrétariat de la Santé du Mexique. Ce lot comprenait des rameaux feuillés, des tiges et des écorces de tige.

Les rameaux, de 3 à 5 mm de diamètre à la base, sont brun grisâtre avec des taches plus pâles et sont striés longitudinalement. A leur partie terminale, ils sont finement pubescents, ce qui leur donne un aspect plus clair. Ils portent des *feuilles* alternes longuement pétiolées (2 à 4 cm); celles-ci sont brun-verdâtre à la face supérieure, plus pâles à la face inférieure, avec un limbe entier sensiblement triangulaire de 8 à 9 cm de long sur 7 à 8 cm de large, arrondi au sommet et à la base; certaines feuilles sont plus brunes à la face supérieure et plus argentées à la face inférieure, elles sont ovales, pointues à l'extrémité, en coin à la base, elles mesurent de 7 à 9 cm de long sur 4 à 6 cm de large. De chaque côté de la nervure principale partent à la base deux nervures secondaires et, plus haut, deux à trois paires de nervures parallèles entre elles. L'odeur et la saveur sont légèrement aromatiques.

Les tiges, de 2,5 à 3 cm de diamètre, ont une écorce mince

de 1 à 1,5 mm d'épaisseur, lisse, marquée de très fines stries longitudinales, la couleur est brun clair avec de larges taches gris argent; les écorces séparées ont une surface interne lisse, au toucher satiné, de teinte uniforme gris-beige, leur cassure est nette et provoque une émission de poussière d'oxalate de calcium, leur odeur et leur saveur sont nettement aromatiques, rappelant celles de la térébenthine mais non amère. Le bois est très dur, jaune pâle.

Le lot comprenait également de fines écorces de rameaux, roulées, analogues aux précédentes.

Ces échantillons ont été comparés aux herbiers du Muséum d'Histoire naturelle de Paris et aux échantillons du Musée de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris.

Les *feuilles* les plus grandes de l'échantillon reçu sont moins pubescentes que la plupart de celles observées dans les herbiers du Muséum, toutes de formes ovales et d'aspect très argenté. Il est possible que notre échantillon provienne de rejets, ce qui expliquerait les différences morphologiques; l'étude anatomique devait révéler par ailleurs une grande analogie de caractères, les seules différences portant sur l'abondance des poils plus abondants dans les échantillons du Muséum.

En ce qui concerne les *écorces*, divers échantillons du Musée de Matière médicale ont montré un aspect comparable, quoiqu'il s'agisse d'écorces plus épaisses, plus rugueuses, ayant un suber plus épais, donnant à la face externe une coloration plus claire.

Les écorces de « Cascarille », fournies par *Croton eluteria*, Benn. sont également très voisines d'aspect, en fragments tubuleux ou cintrés, à surface externe blanc grisâtre dont le suber se détache facilement, à surface interne brune, à cassure nette. La saveur est à la fois amère et très aromatique, rappelant aussi celle de la térébenthine.

2) Etude anatomique.

Des caractères anatomiques assez particuliers sont décrits dans la littérature pour divers *Croton* :

MEYER (54) mentionne notamment, pour les feuilles, la présence de poils tecteurs en candélabres ou fréquemment groupés en touffes et en étoiles, que LEANDRI a observé également dans diverses espèces malgaches (42). Les éléments sécréteurs sont représentés par des cellules cratériformes ou pyriformes et par des poils en aiguillons. Il existe aussi des cellules à contenu huileux ou résineux.

METCALFE note également la présence de tissu criblé périmédullaire ou de liber intraligneux dans le pétiole et la tige; l'existence de fibres péricycliques entourées de cellules cristalligères, de cellules et vaisseaux laticifères dans l'écorce, le liber et la périphérie de la moelle.

Des coupes de feuilles, de tige, d'écorces du lot reçu, de feuilles provenant du Muséum d'Histoire naturelle de Paris, et d'écorces d'échantillons authentiques de *Croton niveus*, Jacq. du Musée de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris furent effectuées puis examinées microscopiquement après double coloration (carmin aluné et vert d'iode).

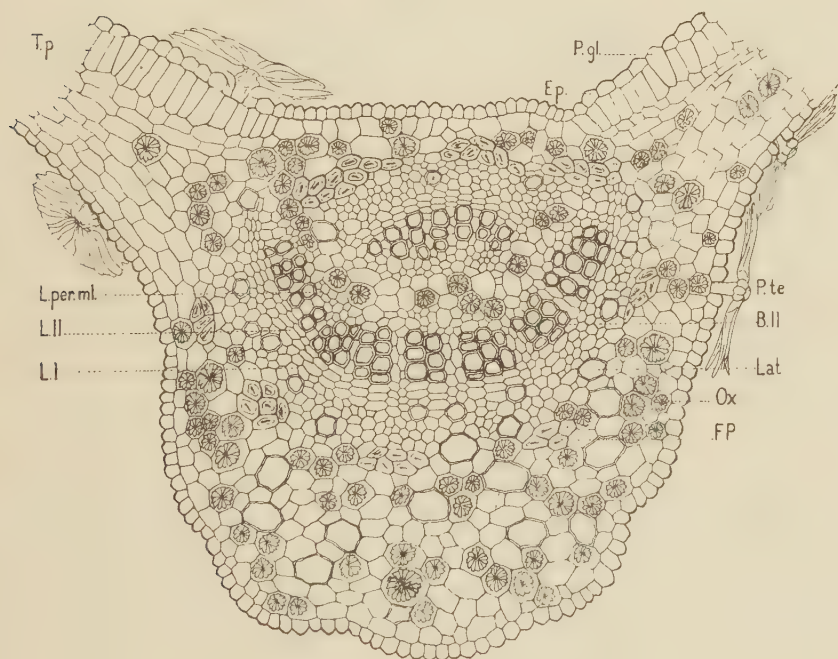


Fig. 18. — Feuille de *Croton niveus*, Jacq. — Coupe transversale (détail). — Ep., épiderme; Tp, tissu palissadique; P. gl., poil glanduleux; P. te., poil tecteur; L. II, liber secondaire; L. I, liber primaire; L. per. ml., liber périmédullaire; B. II, bois secondaire; FP, fibres péricycliques; Ox, macles d'oxalate; Lat., latificères

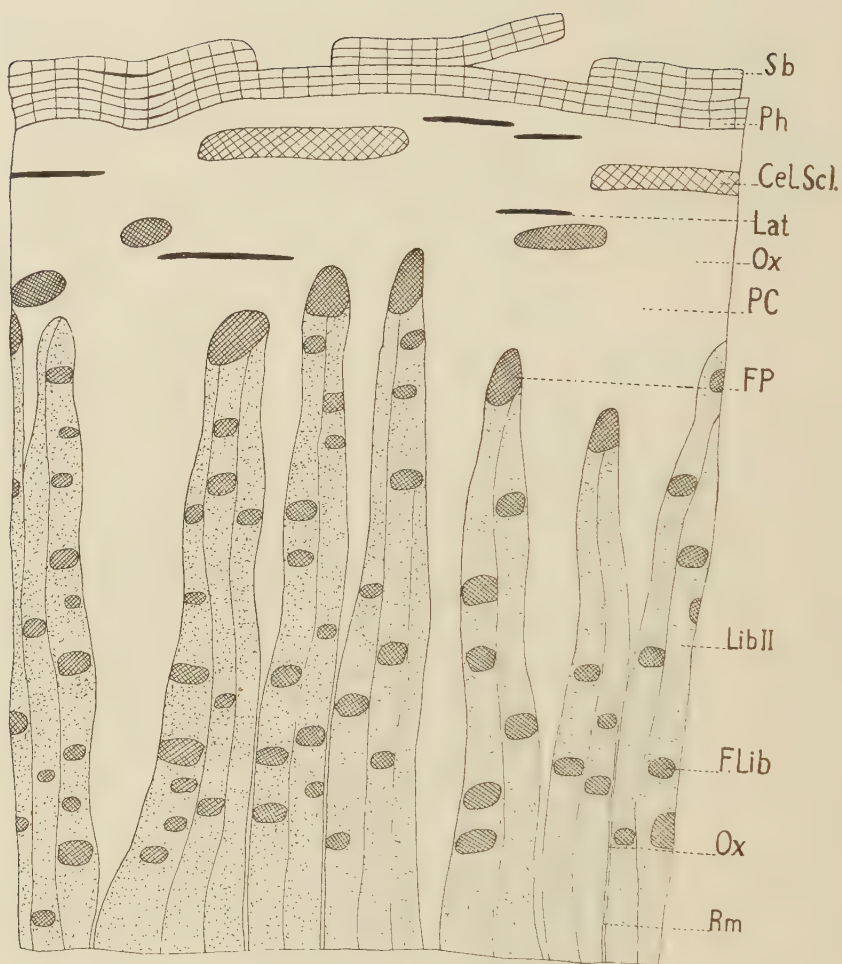


Fig. 19. — Coupe transversale de l'écorce de *Croton niveus*, Jacq. (schéma). — Sb., suber; Ph., phelloderme; Ox, cristaux et macles d'oxalate de calcium; PC, parenchyme cortical; FP, fibres péricycliques; L., laticifères; Lib II, liber secondaire; F. lib., fibres libériennes; Rm, rayons médullaires.

Feuille (Fig. 18).

Les coupes ont été faites au niveau de la nervure principale, assez saillante sur la face inférieure. Les épidermes portent de nombreux poils tecteurs pluricellulaires, en étoile, très abondants sur la face inférieure. Au niveau du limbe, entre les cellules du tissu palissadique formé d'une seule assise, s'insèrent, de place en place, des cellules sécrétrices en forme d'ampoule. Dans la nervure, il existe deux arcs libéro-ligneux opposés et du tissu criblé péri-médullaire. Le parenchyme, peu lacuneux, renferme de grosses et nombreuses macles d'oxalate de calcium. Des laticifères sont présents dans le liber et la région péricyclique.

Les différences qui existent entre les feuilles du lot reçu et celles du Muséum portent essentiellement sur l'abondance et la taille des poils tecteurs pluricellulaires (ceux-ci étant plus nombreux et de plus petite taille dans l'échantillon du Muséum).

Tige.

Une coupe transversale a été faite, d'une tige de 2 à 3 mm de diamètre. Elle montre quelques assises de suber et de phelloderme. Le parenchyme cortical n'est pas très développé, mais on trouve de petits amas de fibres péricycliques peu colorables. Le liber montre des files radiales de cellules à macles d'oxalate de calcium. Le parenchyme ligneux est sclérifié, les rayons médullaires sont unisériés. Présence de liber périmédullaire. Le parenchyme cortical, le liber et la moelle renferment des laticifères.

Ecorces.

Une coupe transversale (Fig. 19 et 20) d'écorces de 2 mm d'épaisseur, présente un suber relativement mince, coloré en brun foncé, à cellules à parois épaisses, puis deux ou trois assises de phelloderme. Le parenchyme cortical assez irrégulier est formé de cellules plutôt allongées tangentiellement. Il renferme des cellules à oléo-résine et des prismes dans la région la plus périphérique, des macles dans les assises internes. On rencontre des laticifères coupés transversalement ou obliquement, de rares fibres péricycliques peu colorables. Les cônes libériens présentent un aspect assez irrégulier, en flamme. La région libérienne comporte des files radiales de cellules contenant des macles d'oxalates de calcium et des laticifères. On note peu d'éléments sclérifiés dans le liber (en raison de la faible épaisseur des écorces).

Nous avons comparé ces caractères à ceux des écorces authentiques de *Croton niveus*, Jacq. du Musée de Matière médi-

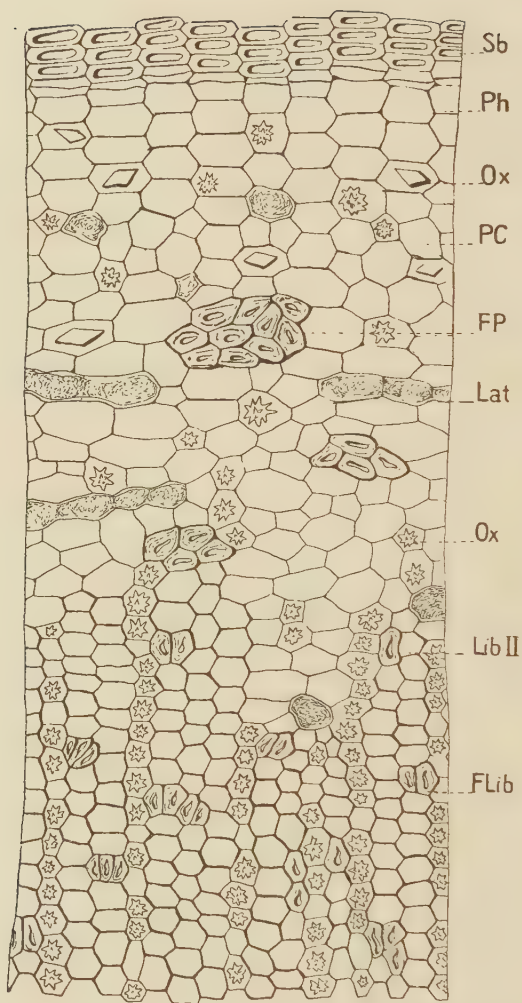


Fig. 20. — Coupe transversale de l'écorce de *Croton niveus*, Jacq. (détail). — Sb., suber; Ph., phelloderme; Ox, cristaux et macles d'oxalate de calcium; PC, parenchyme cortical; FP, fibres péricycliques; L., laticifères; Lib II, liber secondaire; F Lib., fibres libériennes.

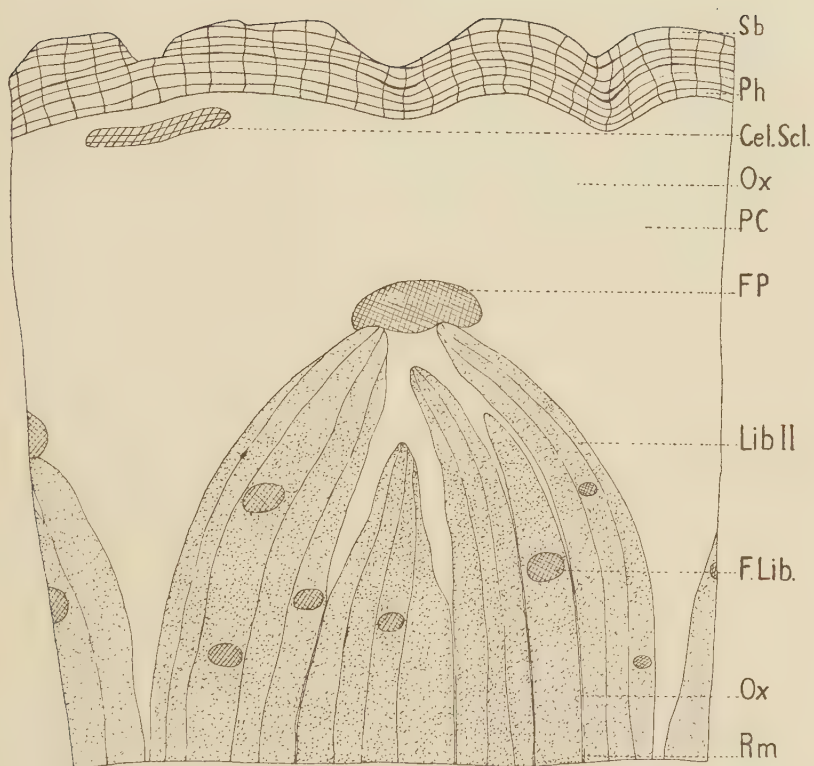


Fig. 21. — Coupe transversale de l'écorce de *Croton eluteria*, Benn. (Schéma). — Sb, suber; Ph., phelloderme; Cel. Scl., cellules scléreuses; Ox, oxalate de calcium (macles et prismes); PC, parenchyme cortical; FP, fibres péricycliques; Lib II, liber secondaire; F. Lib., fibres libériennes; Rm, rayons médullaires.

cale de la Faculté de Pharmacie de Paris, Collection GUIBOUT. Ces dernières sont plus épaisses (3 mm) et renferment beaucoup plus d'éléments scléreux, tant dans le parenchyme cortical, que dans le péricycle et le liber. Les cônes libériens sont plus effilés. Les caractères de ces écorces correspondent à la description donnée par PLANCHON et COLLIN (68). Quant aux écorces de *Croton eluteria*, Benn. ou « Cascarille » (Fig. 21), elles sont très voisines. On peut noter surtout comme caractères de la Cascarille, la régularité des cônes libériens qui convergent vers un paquet de fibres péricycliques et l'abondance des cellules à oléo-résine dans le parenchyme cortical. Nous avons examiné l'écorce de *Croton malambo*, Karst, morphologiquement proche des précédentes, mais qui s'en distingue, à l'examen microscopique, par de nombreuses masses de cellules sclérifiées dans la région péricyclique et le liber.

ETUDE CHIMIQUE

CHAPITRE PREMIER

TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES « COPALCHIS » APPARTENANT AU GENRE CROTON

Les travaux chimiques, très réduits, ont été effectués sur des drogues souvent imparfaitement identifiées.

C'est ainsi qu'en 1825, MERCADIEU (55) publie l'analyse d'une écorce appelée « Copalchi », appartenant peut-être à *Croton suberosus*, H.B.K. Il en extrait une matière fortement amère, astringente.

L'année suivante BRANDES (8) découvre, dans des écorces dénommées « Copalcke » ou « Copalchi », un principe amer jaune, soluble dans l'alcool et l'eau.

En 1827, BERGEN et SANTEN (7) constatent le comportement identique des décoctés des écorces de « Cascarille » et de « Copalchi » vis-à-vis des solutions de perchlorure de fer, de chlorure de baryum, de nitrate d'argent, d'oxalate d'ammonium, d'eau de chaux et de cyanure de potassium; de plus, l'essence est comparable par ses caractères.

HOWARD (27), en 1855, note chez le *Croton pseudochina*,

Schlecht., la présence d'un alcaloïde amer, soluble dans l'éther, donnant une coloration verte avec le chlore et l'ammoniaque, de saveur identique à la quinine mais d'aspect différent au microscope.

En 1868, MENDES (53) aurait également retiré de l'écorce de « Copalchi » ou *Croton pseudochina*, Schlecht. deux alcaloïdes qu'il appelle *copalchine* et *copalchodine*.

L'année suivante MAUCH (52) récapitule les travaux antérieurs, met en doute la présence d'alcaloïde et extrait des écorces de *Croton niveus*, Jacq. (= *Croton pseudochina*, Schlecht.) 1,5 à 2 p. 100 d'un principe amer ou *copalchine*, soluble dans l'alcool et le chloroforme, et 0,15 p. 100 d'une essence jaune clair, aromatique, composée d'un mélange d'acides organiques.

Cependant AREVALO (1), en 1887, extrait des écorces de « Copalchi » (*Croton niveus*, Jacq.) un principe qu'il croit être un alcaloïde, se présentant sous forme de prismes rectangulaires, de saveur amère, peu solubles dans l'eau froide, solubles dans l'eau chaude.

A partir de cette époque, il ne semble pas avoir été fait de travaux chimiques sur le *Croton niveus*, Jacq.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS SUR CROTON NIVEUS, JACQ

Ils ont été effectués sur les écorces du seul lot reçu. Quelques déterminations seulement ont pu être faites sur la petite quantité de feuilles dont nous disposions.

1) Les écorces.

Les déterminations de l'humidité et des cendres totales ont été faites comme pour les écorces de *Coutarea latiflora* (cf. p. 47).

Résultats :

- *Teneur en eau* : 8 p. 100.
- *Cendres totales* : 5,8 p. 100.
- *Huile essentielle*.

Le dosage de l'huile essentielle a été fait en raison de l'appareil sécréteur mis en évidence dans les écorces (cf. p. 112).

Il a été effectué dans un appareil en circuit fermé du type décrit dans la Pharmacopée anglaise. Vingt grammes d'écorces broyées et 300 ml d'eau distillée sont soumis à l'ébullition modérée pendant deux heures. Le volume de l'essence entraînée par la vapeur d'eau est mesuré après refroidissement, puis après une deuxième ébullition jusqu'à ce que le volume reste constant.

La teneur en huile essentielle est de 1,30 p. 100 (v/p).

C'est une essence jaune pâle, moins dense que l'eau. Son odeur rappelle celle de l'essence de térébenthine.

— *Essais sur l'infusé à 5 p. 100.*

L'infusé se présente sous forme d'un liquide clair, jaune-brun, d'odeur et de saveur térébenthinées.

.Les acides sulfurique, chlorhydrique, nitrique ne provoquent qu'un éclaircissement de la teinte.

.Par addition d'alcalis, soude, potasse, ammoniacale, la coloration devient jaune vif.

.Le perchlorure de fer à 1 p. 100 en solution alcoolique produit une coloration vert-noir.

— *Recherche des tanins.*

La réaction à la gélatine salée est négative, avec le réactif de STIASNY (formol chlorhydrique) il ne se produit aucun précipité au bain-marie bouillant, ce qui fait conclure à l'absence de tanins catéchiques en quantité notable.

— *Recherche des flavonoïdes.*

La recherche des flavones par la réaction de la cyanidine (alcool chlorhydrique et tournure de magnésium) est négative sur l'infusé à 5 p. 100; par contre, elle est positive pour un décocté à 20 p. 100. La coloration produite est alors orangé pâle et passe dans l'alcool isoamylique.

— *Recherche des saponines.*

La recherche des saponines a été faite sur les écorces par la détermination de l'indice de mousse et de l'indice hémolytique selon les techniques qui ont été déjà décrites pour les écorces de *Coutarea latiflora*.

Résultats :

— indice de mousse : 500.

— Indice hémolytique : il n'a été observé aucune hémolyse dans les tubes renfermant le soluté de la drogue. L'indice hémolytique est donc inférieur à 200.

— *Recherche des quinones libres.*

Elle a été faite par la réaction de BORNTAEGER. Deux grammes d'écorces pulvérisées sont épuisés par le chloroforme. La

solution chloroformique vert pâle étant agitée avec une solution concentrée de soude, celle-ci ne se colore pas.

— Recherche des alcaloïdes.

La recherche a d'abord été faite sur 20 g par la méthode générale de STAS-OTTO. Le rendement en produit extrait a été de : 0,08 p. 100. Ce produit dissous dans l'eau chlorhydrique ne donne qu'un louche avec les réactifs de MAYER, de BERTRAND et de DRAGENDORFF. Le résidu d'une deuxième extraction, dissous dans 0,5 ml d'éthanol est examiné en chromatographie ascendante sur papier ARCHES 301, taches de 5 μ l., solvant de PARTRIDGE, durée de 16 heures à la température de 20°. Il donne au niveau du front du solvant, après révélation par le réactif de DRAGENDORFF, une faible tache jaune orangé. Il faut noter que cette tache n'apparaît pas immédiatement après la révélation et le séchage du chromatogramme, mais plusieurs jours après. Dans les mêmes conditions, des essais ont été faits sur les alcaloïdes totaux obtenus par la même méthode à partir d'échantillons d'écorces de *Croton niveus* et de *Croton eluteria* provenant de la Collection du Musée de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris (rendements : *Croton niveus*, 0,015 p. 100; *Croton eluteria*, 0,2 p. 100). Pour ces deux échantillons l'étude en chromatographie révèle une tache de même Rf que la précédente, mais plus nette pour l'écorce de Cascarille et apparaissant dès la pulvérisation du révélateur.

L'étude d'une teinture à poids égal d'écorces de *Croton niveus* a été faite en électrophorèse sur papier (appareil de MACHEBOEUF, durée : une heure, tension de 400 volts, tampon acide formique 5 p. 100), taches de 10 μ l. de teinture. Il apparaît, plusieurs jours après la révélation par le réactif de DRAGENDORFF, une très faible tache orangée à 44 mm de la ligne de départ vers le pôle négatif. Au niveau de la ligne de départ une tache jaune se forme aussi lentement.

Un deuxième essai a été effectué en comparant cette teinture à celle de *Croton eluteria*. Cette dernière donne comme celle de *Croton niveus* une tache orangée au point de départ mais immédiate et plus nette, et une autre tache vers le pôle négatif.

EXAMEN DE LA TEINTURE EN CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER.

La teinture à poids égal d'écorces a été examinée en chromatographie ascendante, sur papier ARCHES 301, avec le solvant de PARTRIDGE (butanol, acide acétique, eau, 4-1-5), duré de 16 heures et à une température de 20°. Les taches de teinture sont de 5 μ l.

La teinture est préparée à partir de la drogue pulvérisée,

mise à macérer dans l'alcool à 60° pendant trois jours à l'étuve à 37°. La colature filtrée est ajustée avec de l'alcool à 60°.

Il apparaît ainsi dans le visible et en lumière ultra-violette trois taches dont les R_f sont les suivants :

$R_f = 0,25$ et $R_f = 0,35$. Les taches sont de couleur jaune-vert, apparaissant en jaune-brun en lumière ultra-violette.

$R_f = 0,60$. Le spot correspondant est peu visible, il est jaune brillant aux ultra-violets.

La coloration des taches n'est pas modifiée par la potasse alcoolique, leur fluorescence en lumière ultra-violette est exaltée par la pulvérisation de trichlorure d'aluminium, le perchlorure de fer à 1 p. 100 les colore en gris-vert.

D'autre part, la pulvérisation d'une solution de ninhydrine (0,3 p. 100 dans l'acétone) après séchage du chromatogramme à 100° révèle trois taches roses correspondant à des acides aminés, de R_f 0,27, 0,20 et 0,15.

EXTRACTION PAR LES SOLVANTS SUCCESSIFS.

L'extraction par les solvants successifs a été réalisée dans un appareil de SOXHLET sur 200 g de tiges et sur 350 g d'écorces pulvérisées. Les épuisements sont de quatre heures, ils sont répétés, pour un même solvant, jusqu'à décoloration des liqueurs extractives.

Après chaque extraction, le marc est séché à l'air avant d'être traité par un nouveau solvant. Les liqueurs extractives sont concentrées par distillation sous pression réduite jusqu'à début de précipitation. Les précipités formés par refroidissement sont recueillis puis séchés sous vide en présence d'anhydride phosphorique.

Les rendements en extraits secs sont les suivants :

Tiges :

Ether de pétrole	2,20 %
Chloroforme	1,07 %
Ether	0,20 %
Acétate d'éthyle	0,70 %
Acétone	0,50 %
Ethanol	2,40 %

Ecorces :

Ether de pétrole	10,80 %
Chloroforme	2,40 %
Ether	0,03 %
Acétate d'éthyle anhydre	0,01 %
Acétate d'éthyle à demi saturé d'eau (quatre épuisements de 4 heures) rendement total	7,60 %
Acétone	0,43 %
Ethanol	2,20 %

Les extraits préparés à partir des tiges ou des écorces présentent des caractères analogues.

— *Extrait éthéro-pétrolique.*

Extrait mou, jaune-vert, possédant l'odeur et la saveur térébenthinée des écorces. Le trichlorure d'antimoine, en solution chloroformique produit une coloration vert-bleu, l'acide sulfurique concentré et pur : brune et rouge en milieu chloroformique, le réactif de LIEBERMAN (chloroforme, anhydride acétique, acide sulfurique) vert-noir. Ces dernières réactions indiquent la présence de stérols. La chromatographie sur papier ARCHES 301 (solvant de PARTRIDGE, durée : 16 heures, température de 20°), montre seulement une tache verte au front du solvant dans le visible, à fluorescence bleu-vert en lumière ultra-violette.

— *Extrait chloroformique.*

C'est un extrait sec, vert-brun, à odeur et saveur térébenthinées et dont les réactions colorées sont celles de l'extrait précédent. Le chromatogramme est identique.

— *Extrait éthéré.*

Il se présente sous forme d'un extrait mou, vert, à saveur et odeur très légèrement térébenthinées. En chromatographie sur papier dans les conditions déjà décrites, il montre un premier spot vert de $R_f = 0,90$ et un deuxième, jaune de $R_f = 0,60$.

La réaction de la cyanidine est légèrement positive, et le trichlorure d'antimoine en solution chloroformique produit une teinte rouge-brun.

— *Extrait acétate d'éthyle anhydre.*

Il est constitué par le précipité obtenu au cours de la concentration des liquides d'épuisement. C'est une poudre gris-vert.

La réaction de la cyanidine produit une teinte rouge passant dans l'alcool isoamylique. La chromatographie sur papier montre une tache jaune dans le visible à fluorescence jaune en lumière ultra-violet, de $R_f = 0,60$.

— *Extrait acétate d'éthyle à demi saturé d'eau.*

Les liqueurs d'épuisement ont fourni, après concentration, des précipités identiques, de couleur jaune-vert, fournissant une coloration rouge par la réaction de la cyanidine. La chromatographie sur papier dans les conditions déjà décrites, montrent deux taches jaunes dans le visible, à fluorescence jaune-brun en lumière ultra-violet, de $R_f = 0,25$ et $0,35$.

Les eaux mères provenant de la séparation des précipités précédents montrent en chromatographie une tache jaune dans le visible et après révélation par les ultra-violets, de $R_f = 0,80$.

— *Extrait acétonique.*

Par concentration, on obtient un précipité jaune-brun, astringent, donnant une coloration rouge par la réaction de la cyanidine. La chromatographie sur papier révèle trois taches jaunes de $R_f = 0,80$, $0,35$ et $0,20$ et une traînée jaune allant de la ligne de départ du chromatogramme au niveau du $R_f = 0,15$.

— *Extrait alcoolique.*

Le précipité obtenu par concentration des liqueurs alcooliques se présente sous la forme d'une poudre brune dont la réaction de la cyanidine est positive (coloration rouge). Les spots révélés par la chromatographie sur papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, après examen en lumière ultra-violet, sont les mêmes que précédemment.

En conclusion, d'après ces essais préliminaires, les écorces de *Croton niveus* renferment de l'huile essentielle; des substances stéroliques, passant dans les extraits éther de pétrole, chloroforme et éther; des substances aminées révélées par la ninhydrine, des traces de substances extraites par la méthode générale de STAS-OTTO, donnant des louches avec les réactifs de MAYER et de BERTRAND : en chromatographie sur papier et électrophorèse, elles sont révélées lentement par le réactif de DRAGENDORFF (tache orangée au front du solvant dans le mélange de PARTRIDGE); une petite quantité d'une substance aphrogène, enfin des dérivés flavoniques passant dans l'acétate d'éthyle, l'acétone et l'alcool et présentant une coloration rouge par la réaction de la cyanidine,

donnant en chromatographie sur papier deux taches principales jaune-vert dans le visible et jaune-brun en lumière ultra-violette, de $R_f = 0,25$ et $0,35$.

A noter, qu'aucun des extraits obtenus n'a de saveur amère, ce qui est contradiction avec les observations des anciens auteurs, notamment MAUCH et AREVALO qui caractérisèrent des principes amers dans leurs écorces de *Croton niveus*.

ETUDE DES PRÉCIPITÉS SÉPARÉS DES EXTRAITS ACÉTATE D'ÉTHYLE :

La réaction de la cyanidine montre que les flavonoïdes de la plante sont surtout contenus dans ces extraits, pour lesquels, elle est très intense. La chromatographie sur papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, révèle pour les extraits d'acétate d'éthyle pur et d'acétate d'éthyle saturé d'eau, deux taches nettes, jaunes, fluorescentes en lumière ultra-violette, en jaune-brun et en jaune brillant après pulvérisation d'une solution de chlorure d'aluminium ; leurs R_f respectifs sont de $0,35$ et $0,25$. De plus, le rendement en extrait total est le plus important : 7,6 p. 100 du poids total de la plante.

Le pouvoir réducteur de la solution aqueuse de ces extraits sur la liqueur de FEHLING est augmenté après traitement par quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 p. 100 à l'ébullition pendant quelques minutes puis neutralisation. On a alors un précipité d'oxydure cuivreux rouge. L'extrait acétate d'éthyle renfermerait donc des hétérosides.

Le manque de matière première ne nous a pas permis de tenter la séparation de ces hétérosides à l'état libre. Nous avons dû nous contenter d'un essai d'hydrolyse acide directe de l'extrait.

— Hydrolyse acide.

0,50 g d'extrait brut séparé dans les liqueurs acétate d'éthyle à demi saturé d'eau sont traités à l'ébullition pendant trois heures dans 50 ml d'acide sulfurique à 3 p. 100 v/v. Les liqueurs d'hydrolyse encore chaudes sont filtrées afin d'éliminer la masse résineuse formée. Par refroidissement, il précipite une substance jaune-brun, qui lavée à l'eau glacée, puis séchée est épuisée par l'éther à chaud dans un appareil type micro-Kumagawa. Les liqueurs éthérées sont concentrées jusqu'à ce qu'il apparaisse une légère opalescence, il se dépose alors des aiguilles jaunes engluées d'une masse résineuse brune. Les cristaux sont purifiés par lavage à l'éther glacé.

Ils présentent un point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 320° .

Le spectre ultra-violet a été déterminé sur une solution méthanolique au cinquante millième avec l'appareil UNICAM S.P. 500 : maximums : 258 $m\mu$ et 375 $m\mu$; minimums : 240 $m\mu$ et 285 $m\mu$.

Ce spectre présente les mêmes maximums que celui du quercétol dont le point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) correspond à celui des cristaux obtenus.

Examinés en chromatographie sur papier, comparativement à un témoin de quercétol (papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, durée : 16 heures à la température de 18°), ils donnent une tache jaune dans le visible à fluorescence jaune aux ultra-violets, identique à celle donnée par le quercétol, de même $R_f = 0,60$; dans le solvant alcool isoamylique, hexane, acide acétique, eau (3-1-3-3) et sur papier ARCHES 301, $R_f = 0,65$.

D'après ces données, on peut affirmer que les cristaux jaunes obtenus par hydrolyse du précipité séparé de l'acétate d'éthyle et donnant une réaction de la cyanidine rouge sont du quercétol.

Les liqueurs d'hydrolyse sont neutralisées par le carbonate de baryum, puis concentrées et étudiées en chromatographie descendante continue sur papier ARCHES 301, dans le solvant pyridine, butanol, eau (2,5-4,5-4), pendant 36 heures à la température de 20°. Après révélation par immersion du papier dans une solution de benzidine (benzidine : 0,10 g, acide acétique : 4 ml, éthanol en quantité suffisante pour 20 ml), puis essorage entre deux feuilles de papier filtre et séchage à l'étuve à 100° pendant 3 à 4 minutes, il apparaît deux spots jaune-brun au même niveau que les spots donnés dans les mêmes conditions par des solutions témoins à 2 p. 100 de rhamnose et de glucose. Parallèlement, la chromatographie de l'extrait brut ne révèle que des traces de glucose.

Donc la substance cristallisée, isolée se présente comme la génine d'un hétéroside contenant du rhamnose et du glucose.

L'extrait séparé des liqueurs d'épuisement acétate d'éthyle à demi saturé d'eau a été étudié en chromatographie sur papier comparativement à une solution témoin de rutoside. Pour le papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, durée de 16 heures à la température de 20°, on obtient des spots identiques, jaune-vert dans le visible à fluorescence jaune renforcée par la pulvérisation d'une solution alcoolique de chlorure d'aluminium, de $R_f = 0,35$. La deuxième tache, de $R_f = 0,25$, donnée par l'extrait n'est pas identifiée. Dans le même solvant, sur papier ARCHES 302, la fluorescence est jaune-brun aux ultra-violets et le R_f du rutoside et de la tache principale de l'extrait est de 0,40. Avec le mélange alcool isoamylique, hexane, acide acétique, eau (3-1-3-3), le R_f

est toujours identique pour le rutoside et l'une des taches de l'extrait ($R_f = 0,45$).

Bien que nous n'ayions pas séparé le rutoside à l'état pur, sa présence dans les écorces de *Croton niveus* semble donc pouvoir être affirmée; après hydrolyse, la génine correspondante a été isolée à l'état cristallisée, et par son point de fusion, son spectre UV et son R_f dans deux solvants différents, a pu être identifiée au quercétol.

2) Les feuilles.

— *Teneur en eau* : 11,9 p. 100.

— *Cendres totales* : 8 p. 100.

— *Huile essentielle*.

La détermination de l'huile essentielle a été faite, en raison de l'odeur aromatique prononcée des feuilles, et de la présence d'un appareil sécréteur (poils et cellules sécrétrices). La teneur est de 1,70 p. 100 (v/p). C'est une essence de densité inférieure à celle de l'eau, vert pâle, d'odeur désagréable.

— *Essais sur l'infusé à 5 p. 100* :

L'infusé jaune-brun, possède l'odeur et la saveur des feuilles. Il donne les mêmes réactions que l'infusé et le décocté d'écorces, notamment une coloration jaune orangé par la réaction de la cyanidine.

— *Etude en chromatographie sur papier de la teinture* :

La teinture est préparée à partir de la drogue pulvérisée, mise à macérer dans l'alcool à 60° pendant trois jours à l'étuve à 37°. La colature est ajustée avec de l'alcool à 60°.

Cette teinture concentrée, à poids égal de feuilles, a été examinée en chromatographie ascendante, sur papier ARCHES 301, avec le solvant de PARTIDGE, durée de 16 heures à une température de 20°. Les taches de teinture sont de 5 μ l.

Il apparaît dans le visible et en lumière ultra-violette cinq taches dont les R_f sont les suivants :

— $R_f = 0,35$, $R_f = 0,20$ et $R_f = 0,10$, trois taches jaune-vert à fluorescence jaune-brun.

— $R_f = 0,60$: tache jaune à fluorescence jaune brillant.

Ces quatre taches, après pulvérisation d'une solution de

chlorure d'aluminium et examen aux UV, montrent une fluorescence jaune brillant. La pulvérisation de potasse alcoolique n'accentue pas la fluorescence des taches en lumière ultra-violet et leur coloration plus ou moins jaune dans le visible. La solution de perchlorure de fer fait apparaître les spots en gris-vert.

— $R_f = 0,85$: tache jaune verdâtre à fluorescence brune, ne donnant pas de coloration nette avec les réactifs précédents.

— *Extraction par les solvants successifs :*

Elle a été effectuée parallèlement à celle des écorces sur 200 g de feuilles traitées dans les mêmes conditions.

Les rendements en extraits secs sont les suivants :

Ether de pétrole	2,09 %
Chloroforme	11,08 %
Ether	0,27 %
Acétate d'éthyle	0,03 %
Acétate d'éthyle à demi saturé d'eau (trois épui- sements de 4 heures) rendement total	0,12 %
Acétone	0,03 %
Ethanol	0,05 %

— Les extraits *éthéro-pétrolique* et *chloroformique* ont été obtenus par concentration à sec des liqueurs extractives. Leur couleur est verte, leur consistance est molle. Par chromatographie sur papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE et après révélation en lumière ultra-violet, il apparaît sur le chromatogramme un spot vert de fluorescence bleue au niveau du front du solvant. Ces extraits donnent avec le trichlorure d'antimoine en solution chloroformique une coloration vert-bleu, avec l'acide sulfurique concentré une coloration brune, rouge en milieu chloroformique. La réaction de LIEBERMAN (chloroforme, anhydride acétique et acide sulfurique) : vert-noir. Ces réactions sont en faveur de la présence de stérols.

— *Extrait éthéré.*

Il est obtenu par concentration à sec de la solution éthérée. Il est mou, de couleur verte, de saveur et d'odeur légèrement aromatique. Cet extrait donne la réaction de la cyanidine : coloration rouge violacé passant dans l'alcool isoamylique. Examiné en chromatographie sur papier, solvant de PARTRIDGE, il apparaît dans le visible, deux spots jaunes à fluorescence jaune en lumière ultra-violet dont les R_f sont de 0,85 et 0,60, et un spot jaune verdâtre, à fluorescence jaune-brun de $R_f = 0,35$. La potasse

alcoolique ne provoque pas de modification de la teinte des taches. Le perchlorure de fer les fait apparaître en gris-vert. Un autre spot est visible au niveau du front du solvant, il est vert à fluorescence brune aux UV.

— *Extraits acétate d'éthyle.*

Par concentration jusqu'à précipitation des liquides d'épuisement par l'acétate d'éthyle anhydre et l'acétate d'éthyle à demi saturé d'eau, il se forme des précipités. Ceux-ci, recueillis et séchés, sont des poudres amorphes, de couleur gris-vert donnant une coloration rouge par la réaction de la cyanidine, jaune avec les lessives de soude et de potasse, verte avec la solution de perchlorure de fer.

2,5 μ l. de solution alcoolique saturée d'extrait sont étudiés en chromatographie sur papier (solvant de PARTRIDGE). Quatre taches apparaissent dans le visible :

Rf = 0,35 et Rf = 0,20 : taches jaune-vert à fluorescence jaune-brun aux UV, la première au même niveau que le rutoside.

Rf = 0,85 et Rf = 0,65 : taches jaunes à fluorescence jaune.

Toutes ces taches donnent une fluorescence jaune brillant en lumière ultra-violette après pulvérisation d'une solution de chlorure d'aluminium à 5 p. 100. Elles apparaissent en gris-vert avec une solution de perchlorure de fer.

— *Extraits acétonique et alcoolique.*

Ce sont des poudres brunes donnant encore la réaction de la cyanidine et montrant également en chromatographie sur papier (solvant de PARTRIDGE) trois taches jaunes dans le visible de Rf = 0,35, Rf = 0,20 et Rf = 0,10.

En résumé, les feuilles de *Croton niveus* renferment de l'huile essentielle, des stérols et des dérivés flavoniques, qui d'après la réaction de la cyanidine (rouge), et la fluorescence jaune-vert après chlorure d'aluminium, appartiennent vraisemblablement au groupe de flavonols.

Le manque de matière première nous a empêchée d'approfondir cette étude.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

CHAPITRE PREMIER

TRAVAUX ANTERIEURS SUR CROTON NIVEUS, JACQ

Les écorces de « Copalchi » sont connues surtout comme fébrifuge et succédané des écorces de Quinquina.

La drogue employée n'est pas toujours bien identifiée et il est difficile, dans les anciennes observations, de rapporter l'action pharmacologique à une espèce botanique plutôt qu'à une autre.

Ainsi, en 1825, MERCADIEU (55) rapporte que le « Copalchi » ou « Cortex amara » du Mexique (*Croton suberosus*, H.B.K.) est employé par les médecins de la Vera Cruz pour combattre les fièvres intermittentes, de préférence au Quinquina.

L'année suivante, BRANDES (8) signale que le « Copalcke » provenant du Mexique, qui est pour les uns un *Croton* et pour les autres un *Portlandia*, est utilisé comme fébrifuge.

STARK (73), en 1841, note que les médecins du Chili emploient, à l'égal du Quinquina, dans le traitement des fièvres intermittentes une écorce appelée « Natri », analogue au « Copalchi » ou « Quina blanca » (soit *Croton suberosus*, H.B.K., soit *Croton pseudochina*, Schlecht.). Les médecins de la Vera Cruz attribuent l'action fébrifuge de cette drogue à son principe amer. STARK l'essaie avec succès sous forme d'infusé dans le cas d'atonie diges-

tive et rappelle que l'écorce de « Copalchi » aurait été également utilisée comme antiépileptique.

A l'Exposition Universelle de Paris de 1867, l'écorce de « Copalchi » (*Croton pseudochina*, Schlecht.) est présentée parmi les drogues fébrifuges par la République de San Salvador (71).

En 1887, AREVALO (1) signale l'action antipaludéenne des écorces de *Croton pseudochina*, Schlecht, absorbées sous forme de tisane.

PLANCHON et COLLIN (68) indiquent que les écorces de « Copalchi » (*Croton niveus*, Jacq.) sont employées comme aromatiques et toniques dans les fièvres intermittentes.

STANDLEY (72), en 1923, rapporte ces mêmes propriétés de la drogue qui, exportée autrefois en Europe dans un but thérapeutique, n'a pas été utilisée par la suite.

Quant à la Pharmacopée mexicaine de 1925 (67), elle note que le « Copalchi », fourni principalement par *Croton niveus*, Jacq. a, d'après certains auteurs, des propriétés fébrifuges, mais ajoute que la drogue n'a pas été étudiée suffisamment.

En 1929, ILLIS (30) mentionne que les écorces de *Croton niveus*, sont utilisées comme amer et aromatique sous forme de liqueur ou mélangée au Tabac et comme fébrifuge par les indigènes dans les régions où la plante croît. En outre, est retiré de la tige, un extrait résineux vulnéraire.

MARTINEZ (48) signale également l'action fébrifuge de ces écorces.

Actuellement, les écorces de *Croton niveus*, Jacq. ne semblent plus être beaucoup utilisées en Europe, alors que les autres écorces de « Copalchi » (*Coutarea latiflora*, D.C. et *Exostemma caribaeum*, Roem et Schult) ont une certaine diffusion.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS SUR CROTON NIVEUS, JACQ

— Toxicité aiguë chez la Souris.

Elle a été déterminée par la voie sous-cutanée comme pour les écorces de *Coutarea latiflora*, pour une teinture d'écorce correspondant à moitié de son poids de plante.

La mortalité est nulle pour les doses de 2,50 g/kg, 5 g/kg et 10 g/kg. On note cependant pour la dernière dose, vingt minutes après l'injection, une légère paralysie du train postérieur.

L'administration de la drogue à la dose de 5 g/kg par la voie buccale reste sans effet remarquable sur les animaux.

Les écorces de *Croton niveus* n'ont donc pratiquement aucune toxicité sur la Souris par voie sous-cutanée.

— Action des écorces de *Croton niveus* sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose chez le Lapin.

Parallèlement à l'essai des écorces de *Coutarea latiflora*, nous avons procédé à celui des écorces de *Croton niveus*. Celles-ci sont administrées à la dose de 2,5 g/kg sous forme d'une préparation obtenue en faisant macérer une poudre fine pendant quatre jours à 37° dans l'alcool à 60°, la teinture ainsi obtenue est filtrée, ajustée et évaporée environ au sixième. L'élimination de l'alcool provoquant la précipitation de diverses substances, il est nécessaire d'émulsionner avec 0,50 g de gomme arabique

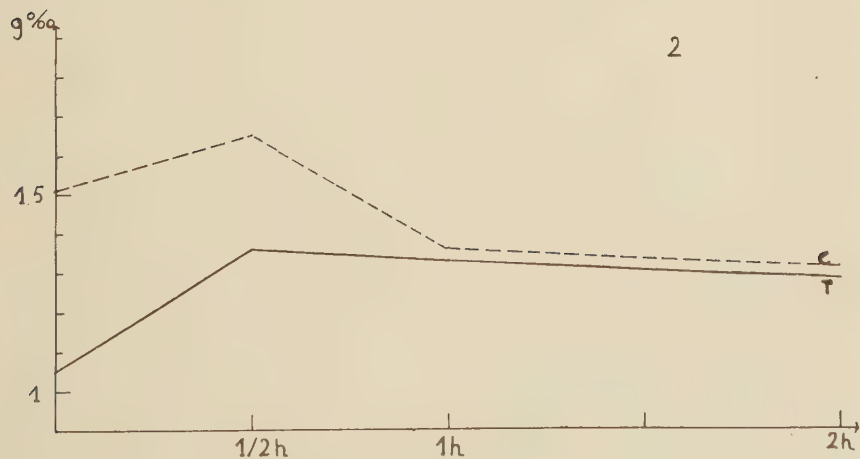
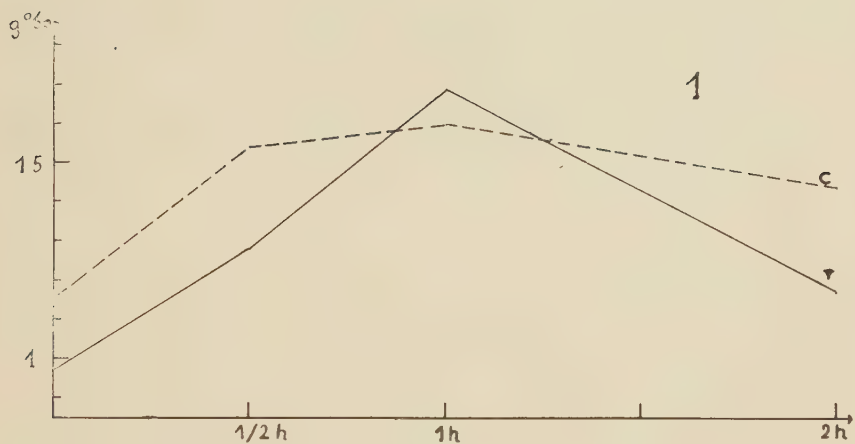


Fig. 22. — Action des écorces de *Croton niveus*, Jacq.
sur l'hyperglycémie provoquée chez le Lapin. — En abscisse :
Temps d'expérience; en ordonnée : pouvoir réducteur exprimé en
glucose par litre de sang. — T. : animaux témoins;
C : animaux traités.

pour 20 g d'écorces, afin d'obtenir une préparation homogène dont 1 ml correspond à 1 g d'écorces.

Trois animaux reçoivent la préparation par sonde œsophagienne tandis que trois autres servant de témoins, reçoivent par la même voie un mélange d'eau et de gomme arabique. La glycémie initiale est déterminée une heure après et le glucose administré à raison de 1 g/kg en solution aqueuse par voie buccale. Les glycémies sont déterminées au bout d'une demi-heure, puis au bout d'une heure et de deux heures (cf. p. 89).

Les résultats sont les suivants (Fig. 22) :

Expérience N° 1 :

Animal N°	63	62	65	61	64	60
Poids	2000	2100	2400	2200	2100	2200
Une heure avant To :				<i>Administration du mélange;</i>		
<i>Administration de la drogue + excipient</i>				<i>eau + excipient</i>		
To	1,06	1,19	1,20	0,97	0,81	1,14

Administration du glucose : 1 g/kg.

To + 1/2 h.	1,52	1,60	1,51	1,09	1,17	1,60
To + 1 h.	1,50	1,72	1,60	1,52	1,57	1,98
To + 2 h.	1,21	1,96	1,16	1,31	0,99	1,22

Moyenne des résultats :

	<i>Animaux traités</i>	<i>Animaux témoins</i>
To	1,15	0,97
To + 1/2 h.	1,54	1,28
To + 1 h.	1,60	1,69
To + 2 h.	1,44	1,17

Dans une deuxième expérience, les animaux ont reçu la drogue sous forme d'une préparation analogue à la précédente, mais pour laquelle la macération a eu lieu pendant six jours au lieu de quatre. Au bout d'une heure, un des lapins a de violentes convulsions et meurt, les trois autres également traités présentent une paralysie très importante du train postérieur, paralysie qui ne régresse pas pendant les quinze jours qui suivent l'expérience et qui semble ainsi permanente. Les résultats sont les suivants (Fig. 22 - 2) :

Expérience n° 2 :

Animal N°	58	55	63	65	56
Poids	2000	2300	2300	2000	2300
Une heure avant To :				Administration du mélange eau + excipient	
Administration de la drogue + excipient					
To	1,68	1,22	1,64	0,99	1,11
Administration du glucose : 1 g/kg.					
To + 1/2 h.	1,78	1,19	2	1,50	1,22
To + 1 h.	1,39	1,21	1,50	1,38	1,29
To + 2 h.	1,38	1,20	1,37	1,34	1,22

Moyenne des résultats :

	Animaux traités	Animaux témoins
To	1,51	1,05
To + 1/2 h.	1,65	1,36
To + 1 h.	1,36	1,33
To + 2 h.	1,31	1,28

En conclusion, indépendamment des phénomènes d'intoxication constatés chez le Lapin, à la dose de 2,50 g/kg, nous n'avons pas observé d'action du *Croton niveus* sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose.

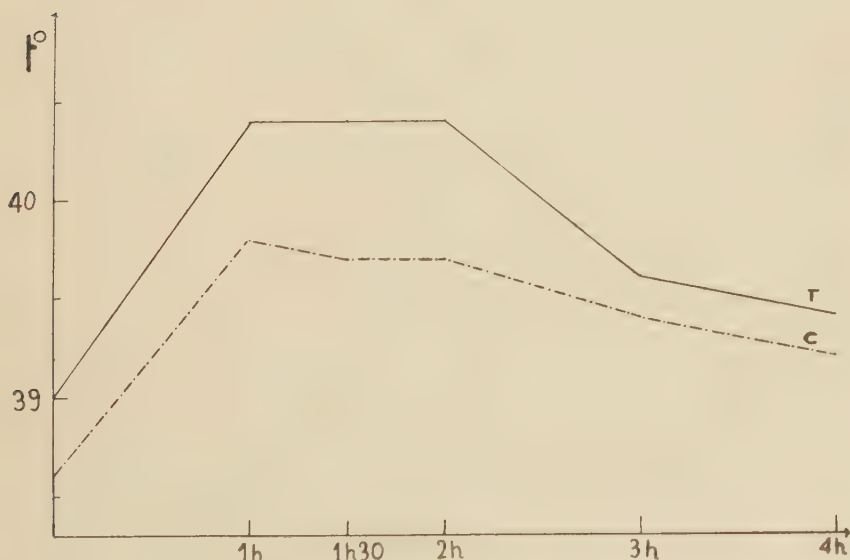


Fig. 23. -- Pouvoir hypothermisant des écorces de *Croton niveus*, Jacq. (voie sous-cutanée chez le Lapin.) — En abscisse : Temps d'expérience; en ordonnée : températures.
T : animaux témoins; C : animaux traités.

— Pouvoir hypothermisant des écorces de *Croton niveus* chez le Lapin.

Il a été recherché par la technique déjà utilisée pour les écorces de *Coutarea latiflora* (cf. p. 96) et le coutaréoside.

Les animaux reçoivent en injection sous-cutanée la drogue à raison de 1 g par kilogramme (dose qui est bien tolérée), sous forme d'une suspension aqueuse préparée par macération d'une poudre fine d'écorces dans cinq parties d'alcool à 60° pendant quatre jours à 37°. La teinture ainsi obtenue est filtrée, ajustée et évaporée de façon à obtenir une préparation qui corresponde à 1 g de plante par ml. L'évaporation de l'alcool ayant provoqué la précipitation de diverses substances, une simple agitation permet d'obtenir une préparation pouvant être injectée.

Les résultats sont les suivants (Fig. 23) :

Animaux N°	8	9	12	I
Poids	2700	2600	2500	2660
<i>Animaux traités</i>				<i>Animal témoin</i>
To	38°5	38°9	38°3	39°
<i>Administration de la drogue.</i>				
<i>Voie sous-cutanée.</i>				
To	38°6	39°1	38°2	39°
<i>Administration de la substance pyrogène.</i>				
To + 1 h.	39°4	39°7	39°5	40°4
To + 1 h. 30	39°6	39°8	39°5	40°4
To + 2 h.	39°6	39°9	39°4	40°4
To + 3 h.	39°5	39°6	39°3	39°6
To + 4 h.	39°4	39°4	38°8	39°4

Moyenne des résultats :

Animaux traités	Témoins
To + 1 h.	39°8
To + 1 h. 30	39°8
To + 2 h.	39°6
To + 3 h.	39°4
To + 4 h.	39°2

Les écorces de *Croton niveus* provoquent ainsi un abaissement de la température d'environ 0°4, par voie sous-cutanée et à la dose de 1 g kg, propriété qui justifie donc, dans une certaine mesure, la réputation de la drogue comme fébrifuge. Si elles ont à ce point de vue une action analogue à celles du *Coutarea*, elles s'en distinguent nettement par les phénomènes d'intoxication qu'elles produisent chez le Lapin à dose plus forte par voie orale et l'absence d'effet sur l'hyperglycémie provoquée chez cet animal.

TROISIEME PARTIE

ETUDE DE L'EXOSTEMMA CARIBAEUM, ROEM. et SCHULT.



ETUDE BOTANIQUE

CHAPITRE PREMIER

LE GENRE EXOSTEMMA ET L'ESPECE EXOSTEMMA CARIBAEUM

Le genre *Exostema* (1) a été créé en 1808 par HUMBOLDT et BONPLAND (28). Il se différencie surtout du genre *Cinchona* par ses étamines exsertes (ce que rappelle l'étymologie du nom) (4), et le mode de déhiscence de la capsule.

Cette dénomination avait déjà été donnée en 1805 par PERSSON (66) à une section des *Cinchona*, dans laquelle cet auteur range le *Cinchona caribaea* décrit en 1763 par JACQUIN (32).

Voici la diagnose du genre selon HUMBOLDT et BONPLAND :

Calice : Tube en forme de toupie, confluent à l'ovaire ; limbe à cinq dents dressées, aiguës, tantôt très courtes, tantôt de la longueur du tube (d'où la subdivision des espèces).

Corolle : Tube long, cylindrique. Limbe divisé jusqu'à la gorge du tube en cinq parties, glabres vers l'intérieur, en forme de lanières de la longueur du tube, linéaires, étalées puis recourbées en volutes, canaliculées. Le limbe, avant l'épanouissement, est légèrement oblique et subarqué.

(1) Avec un seul m.

Étamines : Cinq. Les filaments sont exserts, grêles, insérés côte à côte dans le tube de la corolle, Anthères linéaires, droites, terminales.

Pistil : Ovaire infère, terminé par un disque vésiculeux convexe. Style de la longueur de l'étamine, filiforme; stigmathe subcapité, marqué d'un sillon, non divisé.

Fruit : Capsule ovoïde, oblongue, couronnée par le limbe du calice, d'abord verte puis brune à maturité. Le péricarpe est cartilagineux sur sa face interne, subtestacé, biloculaire, s'ouvrant par deux valves le long de la cloison. Le placenta à l'intérieur de chaque loge est convexe d'un côté, plan de l'autre, attaché en un point central de sa face plane à la cloison puis libéré ensuite.

Graines : Peu nombreuses (un grand nombre d'ovules avortant). Elles sont disposées en deux séries imbriquées et insérées sur le placenta. Elles sont subelliptiques, planes, l'aile marginale membraneuse les entourant complètement.

Le tégument est très fin, membraneux, finement réticulé, veiné. L'albumen est de la forme de la graine, subcorné, blanc. L'embryon est dans l'axe de l'albumen, de même couleur, d'un tiers environ plus court, droit. La radicule est cylindrique, filiforme, les cotylédons, de moitié plus courts et plus larges que celles-ci sont ovales, suborbiculaires, aplatis.

Ce genre est rangé dans la tribu des Cinchonées caractérisée par les fruits capsulaires et les graines ailées. ENGLER et PRANTL (14) divisent les Cinchonées en deux sous-tribus : les Eucinchonées, avec les *Cinchona* à préfloraison valvaire et les Hilliées à préfloraison tordue ou imbriquée, où est placé le genre *Exostemma* (à fleurs régulières) à côté du genre *Coutarea* (à fleurs zygomorphes).

D'après l'INDEX KEWENSIS, il existe 47 espèces d'*Exostemma*, originaires d'Amérique à l'exception de trois espèces d'Asie ou d'Océanie. Une quarantaine sont des arbres ou arbustes des Iles Caraïbes.

L'*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. a été décrit par JACQUIN pour la première fois en 1763, sous le nom de *Cinchona caribaea* (32), puis à nouveau en 1788. Voici sa diagnose de 1763 :

— *Cinchona caribaea* : pédoncule à une seule fleur.

Calice gamosépale, petit, à cinq dents acuminées, dressées surmontant l'ovaire, persistantes.

Corolle gamopétale. Tube cylindrique, très long, dressé. Limbe

à cinq lobes linéaires, laciniés, obtus, concaves, réfléchis à la partie supérieure du tube.

Étamines : cinq filets, très fins, insérés au fond du tube et plus longs que lui. Anthères, linéaires, droites, de la longueur de la corolle.

Pistil : ovaire oblong, infère; style très fin, dressé, de la longueur des étamines; stigmate obtus.

Péricarpe : capsule subovée, obtuse, couronnée par le calice, divisée en deux et s'ouvrant par des valves.

Graines : nombreuses, suborbiculées, aplaties, imbriquées.

Petit arbre dressé, rameux, de 10 pieds (3,5 m environ), à écorce gris cendre ayant la saveur de l'écorce du Pérou. Feuilles lancéolées, aiguës, entières, glabres, souvent réfléchies, pétiolées, opposées, de 2 ou 3 pouces (5 à 7,5 cm) de long. Les stipules sont interpétiolaires, larges, aiguës. Le pédoncule est à une fleur, court, axillaire, unique. Les fleurs sont odorantes, blanches, d'un pouce et demi (2,5 à 3,5 cm). La capsule est verte avant la maturité, très amère, son suc produit une irritation brûlante des lèvres et des narines.

Plante arbustive qui pousse autour de La Havane, de Saint-Domingue, à Bayaha, fleurit de septembre à octobre. Les fruits sont mûrs en décembre.

L'année suivante (1764), JACQUIN (35) reprend la description du « *Quinquina des Caraïbes* » en insistant sur la similitude avec le *Quinquina officinal* (même aspect de l'arbre et des écorces, même saveur de celles-ci, mêmes caractères des feuilles et des fruits), les différences résidant dans les caractères de la corolle et la longueur des étamines.

Nous avons vu que PERSOON (66), en 1805, crée dans le genre *Cinchona*, la section *Exostema* caractérisée par ses étamines exsertes et y range, entre autres, le *Cinchona caribaea*, Jacq. Après la création du genre *Exostema* par HUMBOLDT et BONPLAND en 1808, ROEMER et SCHULTES (19) reprennent en 1819, en la précisant, la description de l'espèce créée par JACQUIN mais sous le nom d'*Exostemma caribaeum* (avec deux m, orthographe qui a prévalu). En 1821, HAYNE (23) en donne une belle iconographie (Fig. 24).

Dans son *Prodromus* en 1830, DE CANDOLLE (11) redonne les caractères du genre *Exostemma* où il crée la section *Pitonia* dans laquelle il range l'*Exostemma caribaeum* ainsi que l'*Exostemma floribundum* ou « *Quinquina Piton* ». Il précise que les écorces de ces deux espèces sont des succédanés de celles du *Quinquina*, qu'elles auraient la réputation d'être fébrifuges et légèrement émétiques.



Fig. 24. — *Exostema caribaeum*, Roem et Schult., d'après HAYNE (F.-G.), Getreue Darstellung und Beschreibung der in der Arzneykunde Gebräuchlichen Gewächse, 1821, 7, 44

1. Capsule entière; 2. Coupe transversale d'une capsule;
3. Capsule ouverte; 4. Placenta accompagné de graines;
5. Graine réduite de moitié; 6. Graine grossie 2 fois 1/2;
7. Coupe de graine.

Voici, d'après STANDLEY (72), la description de l'*Exostemma caribaeum* :

Arbuste ou arbre atteignant parfois 8 m. de haut. Les feuilles sont pétiolées, ovales à oblongues, elliptiques, de 5 à 11 cm de long, acuminées, obtuses ou aiguës à la base, poilues à la face inférieure sur les axes des nervures, glabres partout ailleurs; les fleurs sont pédicellées, à corolle blanche, les lobes linéaires sont recourbés, environ aussi longs que le tube; la capsule a de

1 cm à 1,5 cm de long. Le bois est dur, rugueux, grenu, brun à stries jaunes, sa densité est d'environ 0,93. Il pousse au Mexique : à San Luis Potosi, Colima, Guerrero et au Yucatan, au sud de la Floride et en général dans les Indes occidentales et l'Amérique centrale. Il est appelé *sabac-ché* au Yucatan et à Maya, *faux Quina*, *cuero de sapo* et *lechesillo* à Porto-Rico, *macaragua de costa*, *cerillo*, *cera amarilla* à Cuba. Il est connu aux Bahamas sous le nom de *Prince wood*.

MARTINEZ (48) l'appelle encore « Copalchi de Michoacan ».

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS

1) Etude morphologique des écorces.

Nous avons examiné des échantillons du Musée de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris. Il s'agit de fragments de 1 à 2 mm ou plus d'épaisseur, à surface externe brun chamois, parfois plus claire et plus orangée là où existe le suber. La face interne est plus foncée, très finement striée. La cassure, légèrement esquilleuse, montre sur certains échantillons (collection GUIBOURT) de nombreux petits points brillants. La saveur est très amère, et la salive reste colorée en jaune-brun. Ces écorces ne présentent pas d'odeur. Elles ont un aspect voisin de celles du *Coutarea*, cependant ces dernières sont de teinte plus claire et plus grise sur la face externe et fréquemment verdâtre sur la face interne. Leur cassure est orangée.

2) Etude anatomique.

Les *Exostemma* ont déjà été étudiés au point de vue anatomique, notamment par HECKEL (25) qui décrit des cellules à cystolithes dans les rameaux d'*Exostemma floribundum* n'existant pas chez l'*Exostemma caribaeum*. D'après LEMESLE et LAFAYE (43), il s'agirait d'oxalate de calcium en macles et en sable chez l'*Exostemma floribundum*. PLANCHON et COLLIN (68) insistent sur des différences entre l'*Exostemma caribaeum* et les *Cinchona* : oxalate en prismes et non en sable, fibres libériennes plus petites et groupées chez l'*Exostemma caribaeum*.

Des coupes transversales ont été effectuées sur des écorces de 3 à 4 mm d'épaisseur (Fig. 25). Après double coloration par le carmin aluné et le vert d'iode, on remarque sous le suber mince à cellules allongées tangentiellement, fréquemment exfolié, quelques assises de phelloderme. Le parenchyme cortical est formé de cellules régulières, allongées tangentiellement et renfermant des amas de cellules scléreuses à lumen important et à paroi fortement canaliculée. Dans la région péricyclique, ces amas sont composés à la fois de cellules scléreuses et de fibres

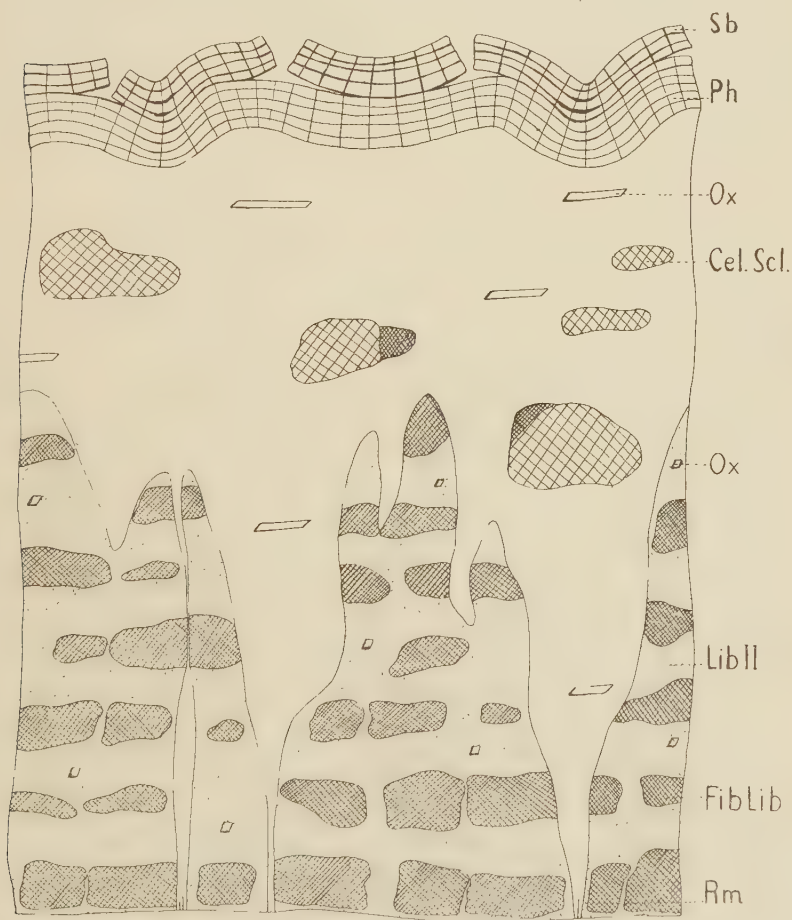


Fig. 25. — Coupe transversale d'*Exostemma caribaeum*, Roem et Schult. (Schéma). — Sb, suber; Ph, phelloderme; Ox., oxalate de calcium; Cel. Scl., cellules scléreuses; Lib II, liber secondaire; Fib. Lib., fibres libériennes; Rm., rayons médullaires.

plus ou moins arrondies, de petites dimensions, à lumen étroit. Le liber renferme uniquement des fibres disposées en amas réguliers, lui donnant un aspect stratifié, le distinguant de celui des écorces de *Coutarea*. Ces amas qui comprennent une cinquantaine de fibres ($15\ \mu$ de diamètre) sont très différents des petits groupes de fibres plus grosses ($30\ \mu$) rencontrées chez le *Coutarea latiflora*. Les rayons médullaires sont généralement trisériés. Notons que nous n'avons pas trouvé dans ces coupes de cellules à sable d'oxalate de calcium comme chez le *Coutarea*. Chez certains échantillons il n'existe pas du tout d'oxalate, alors que chez d'autres (collection GUIBOURT), sont visibles de nombreux petits prismes dans le liber et de grosses raphides dans le parenchyme cortical; ces dernières, déjà signalées par PLANCHON et COLLIN (68) chez les *Exostemma*, correspondent vraisemblablement aux points brillants de la cassure.

ETUDE CHIMIQUE

CHAPITRE PREMIER

En ce qui concerne l'*Exostemma caribaeum*, HARTWICH en 1898 (22), y mentionne la présence de tanin et VILLASENOR (76) en aurait extrait un alcaloïde, un principe amer et une saponine. Tout récemment, KREBS et GRIESINGER (40) ont étudié la teinture de ces écorces par chromatographie ascendante sur papier SCHLEICHER et SCHÜLL, dans le solvant acétate d'éthyle, acide formique, eau (10-2-3). Parmi les taches, trois, jaune pâle dans le visible, brun olive en lumière ultra-violette, sont rapportées à des flavonoïdes : $R_f = 0,60 - 0,38 - 0,33$. Une quatrième tache donnerait des réactions analogues à celles de l'acide chlorogénique. Il existe aussi une tache de fluorescence violette près du front du solvant. Les mêmes auteurs ne décèlent pas d'alcaloïdes dans ces écorces, ni par chromatographie, ni par extraction. Ils en séparent une substance cristallisée qu'ils identifient au mannitol.

Etudié dès 1821 par PELLETIER et CAVENTOU (64), l'*Exostemma floribundum* ou « Quinquina Piton » des Antilles a fait l'objet, en 1953, des recherches de R. PARIS et M. POINTET (59). Ces auteurs y caractérisèrent des traces d'alcaloïdes indoliques et des tanins catéchiques et retirèrent un principe amer non cristallisé, de point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : $230^{\circ}-231^{\circ}$, de nature glucosidique et dont la génine n'est plus amère. Il s'agit d'une lactone non saturée renfermant des fonctions hydroxylées. Ils isolent également une substance cristallisée appartenant au groupe des coumarines, fluorescente en bleu en lumière ultra-violette.

En dehors d'une étude de l'*Exostemma sanctæ luciae*, BRITTON (46) en 1957, y signalant la présence d'alcaloïdes, il n'y a pas eu, à notre connaissance, d'autres recherches chimiques sur les *Exostemma*.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS SUR LES ECORCES D'EXOSTEMMA CARIBAEUM

Seules quelques déterminations ont pu être effectuées sur un échantillon réduit d'écorces appartenant à la collection du Musée de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris.

L'infusé d'écorces à 1 p. 100 est de couleur jaune-brun accentuée par addition de carbonate de sodium. Sa saveur est très amère.

Il montre une coloration vert-brun avec le perchlorure de fer à 1 p. 100, mais il ne donne pas de précipité avec la gélatine salée et ne réagit pas à froid avec le réactif de STIASNY, cependant à chaud (à la température du bain-marie bouillant) et après dix minutes, il se forme un précipité brun cailleboté.

La réaction dite de la cyanidine ne provoque pas de changement de la coloration de l'infusé. L'alcool isoamylique ajouté à la fin de la réaction se colore en jaune-brun.

L'indice de mousse a été déterminé. Il est de 500.

La *recherche des alcaloïdes* a été faite sur 2 g d'écorces par la méthode générale de STAS-OTTO. Le résidu obtenu, après extraction, a été de 0,05 p. 100. Ce dernier, dissous dans 0,20 ml d'éthanol a été étudié en chromatographie sur papier ARCHES 301 dans le solvant de PARTRIDGE pendant 16 heures, à la température de 20°, taches de 10 μ l. Après pulvérisation de réactif de DRAGENDORFF, aucune tache n'est révélée. Nous pouvons donc conclure à l'absence d'alcaloïdes.

Chromatographie sur papier de teintures d'écorces d' « Exostemma caribaeum ».

Des teintures ont été préparées à partir de poudres fines de deux échantillons d'écorces d'*Exostemma caribaeum* (Collection générale du Musée de Matière médicale et Collection GUIBOURT) par macération pendant trois jours, à 37°, dans deux parties d'alcool à 90°. Les liqueurs filtrées sont ajustées au demi (p/v), puis examinées en chromatographie ascendante comparativement à une solution saturée de coutaréoside et à des teintures d'écorces d'*Exostemma floribundum* et de *Coutarea latiflora* préparées dans les mêmes conditions (papier ARCHES 301, solvant de PARTRIDGE, temps : 16 heures, température : 18° ± 1°, taches de 5 μ l.). Ces chromatogrammes présentent de grandes analogies ; ainsi, il existe pour toutes les teintures, deux taches jaune-vert dans le visible. Leur fluorescence brune en lumière ultra-violet est inchangée après pulvérisation de trichlorure d'aluminium. La potasse alcoolique les fait virer en rose orangé et le perchlorure de fer en vert. Leurs Rf sont de 0,45 et de 0,54 environ, ce dernier correspondant à celui du coutaréoside examiné dans les mêmes conditions.

Cependant de faibles différences sont remarquées à l'examen en lumière ultra-violet. Ainsi, les teintures d'*Exostemma caribaeum* et d'*Exostemma floribundum* montrent toutes, une tache fluorescente en bleu-violet de Rf = 0,75, puis deux taches fluorescentes en bleu de Rf = 0,85 et 0,48, cette dernière étant particulièrement intense avec la teinture d'*Exostemma caribaeum* (collection GUIBOURT). Quant à la teinture de *Coutarea latiflora*, elle montre trois taches de Rf = 0,75, 0,48 et 0,38 de fluorescence bleue.

Dans le mélange pyridine, acétate d'éthyle, eau (1-2-2), il apparaît pour toutes les teintures une tache fluorescente en violet de Rf = 0,55 ; seule la teinture de *Coutarea latiflora* présente en plus une tache de fluorescence bleue de Rf = 0,45. Les taches précédemment décrites : jaune-vert dans le visible, à fluorescence brune, se retrouvent ici au front du solvant comme la tache du coutaréoside examiné dans les mêmes conditions.

D'après ces quelques essais, les écorces d'*Exostemma caribaeum* ne semblent pas renfermer d'alkaloïdes mais des substances, qui d'après leur fluorescence en lumière ultra-violet bleue ou bleu-violet sembleraient devoir être rattachées aux coumarines, ainsi que des principes phénoliques analogues à ceux rencontrés chez le *Coutarea latiflora* et l'*Exostemma floribundum*.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES ECORCES D'EXOSTEMMA CARIBAEUM. ROEM. et SCHULT.

L'*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. ou « Quinquina des Caraïbes » a été utilisé comme les Quinquinas vrais pour ses propriétés toniques et fébrifuges.

Ainsi MARTINEZ DEL CAMPO (50), en 1904, traite une forme quotidienne de paludisme par une cuillerée, trois fois par jour, d'extrait fluide. Au bout de trois jours, la fièvre disparaît mais revient dès que le traitement cesse.

En 1925, STANDLEY note que ces écorces étaient autrefois fréquemment employées comme fébrifuge à la place de celles de Quinquina, mais qu'elles auraient pour certains des propriétés émétiques.

Quant à MARTINEZ (48), en 1944, il rapporte les observations de MARTINEZ DEL CAMPO.

Actuellement, les écorces d'*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. ne semblent plus être employées. Nous regrettons que la faible quantité de matière première à notre disposition ne nous ait pas permis d'étudier personnellement cette drogue. Quant à l'*Exostemma floribundum* ou « Quinquina Piton », il est encore employé de nos jours aux Antilles comme tonique et fébrifuge, cependant R. PARIS et M. POINTET (59) ne l'ont pas trouvé très actif sur l'hyperthermie provoquée chez le Cobaye par le dinitrophénol.

CONCLUSIONS GENERALES

Ce travail est consacré à l'étude des « Copalchis », drogues d'Amérique centrale et surtout du Mexique. Le nom indien de « Copalchi » ne désigne pas une seule espèce botanique, mais, comme nous l'avons rappelé dans un historique, différentes drogues envoyées en Europe au début du XIX^e siècle comme fébrifuges succédanés du Quinquina. Il s'agit de divers Crotons, notamment *Croton niveus*, Jacq. (Euphorbiacée), et de Rubiacées : *Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. et surtout *Coutarea latiflora*, D.C., cette dernière espèce ayant également une réputation d'antidiabétique.

Nous avons entrepris l'étude botanique, chimique et physiologique comparée de ces trois « Copalchis » et notamment du *Coutarea latiflora*, D.C. (« Copalchi de Jojutla ») dont nous avons les échantillons les plus abondants.

Au point de vue botanique, le genre *Coutarea*, de la tribu des Cinchonées comporte, d'après l'INDEX KEWENSIS, une vingtaine d'espèces d'Amérique centrale et d'Amérique du sud. L'espèce *Coutarea latiflora* créée en 1830 par DE CANDOLLE uniquement d'après les dessins de MOCINO et SESSÉ, est rangée en 1935 par BULLOCK dans le nouveau genre *Hintonia* créé par lui, et scindée en deux espèces : *Hintonia standleyana*, Bullock (= *Coutarea latiflora*, Standley ex-D.C.) et *Hintonia latiflora*, Bullock (= *Coutarea pterosperma*, Standley).

Dans ce travail, ont été examinés comparativement plusieurs lots d'écorces de *Coutarea* originaires du Mexique dont l'un était accompagné d'un herbier. Les caractères de la fleur et de la capsule correspondaient à ceux de l'*Hintonia standleyana* de Bullock. Au point de vue anatomique, les écorces des trois lots sont tout à fait comparables et présentent des caractères de Rubiacées : cellules à sable d'oxalate de calcium, fibres libériennes voisines de celles des *Cinchona*.

Au point de vue chimique, des auteurs allemands, KAISER et GEYER avaient signalé, en 1956, dans ces écorces, la présence d'alkaloïdes (de même Rf que la quinine et la quinidine), d'un principe amer, d'une saponine et surtout de deux dérivés cristallisés rattachés aux flavonoïdes.

Au cours de ces recherches, nous avons mis en évidence la présence de traces de substances donnant les réactions générales des alkaloïdes, d'une petite quantité d'un principe aphrogène et l'absence de dérivés flavoniques vrais (réaction de la cyanidine négative). Par contre, ont été caractérisées, dans l'extrait acétate d'éthyle, des substances de nature polyphénolique dont l'isolement et la purification ont été essayés par différents procédés. Après séparation des substances brutes par concentration de l'extrait par l'acétate d'éthyle, leur fractionnement a été effectué sur une colonne de cellulose tamponnée, ou par cristallisation fractionnée dans différents solvants (eau à l'ébullition ou mélange éthanol-éther éthylique à parties égales). Trois substances ont pu être ainsi séparées, en proportion inégale suivant les lots d'écorces.

La substance I a été obtenue à l'état cristallisé en tablettes prismatiques blanchâtres de saveur amère. Elle est très peu soluble dans l'eau froide, plus soluble à chaud, très peu soluble dans le chloroforme, légèrement soluble dans l'éthanol, l'acétate d'éthyle et le méthanol. En chromatographie sur papier dans différents solvants, elle donne une seule tache, jaune-vert dans le visible, de fluorescence brune en lumière ultra-violet, virant au rose orangé après pulvérisation de potasse alcoolique et au vert après perchlorure de fer. Elle est dédoublable par hydrolyse acide en glucose et une génine obtenue à l'état cristallisé en aiguilles jaune pâle, de saveur non amère (point de fusion instantané, bloc MAQUENNE : 213°). La génine possède un groupement méthoxyle, plusieurs groupements hydroxyle (3 OH acétylables). L'hétéroside et sa génine se colorent en orangé par les lessives alcalines puis en rouge groseille par dilution aqueuse, mais la réaction de la cyanidine est négative. Il ne peut donc s'agir de flavonoïdes vrais. Les spectres ultra-violet (max. à 253 m μ et 330 m μ), infra-rouge et certaines réactions colorées sont proches de ceux des hydroxy-coumarines. Les résultats de l'analyse élémentaire et la teneur en méthoxyle conduisent pour l'hétéroside à une formule en C₂₂ H₂₄ O₁₂ et pour la génine en C₁₆ H₁₂ O₆. Pour cet hétéroside qui semble nouveau est proposé le nom de *coutaréoside*.

La substance II, amorphe, isolée en faible quantité, présente des réactions colorées, un spectre ultra-violet voisins de ceux du coutaréoside mais en diffère par son Rf en chromatographie.

La substance III est un principe amer, cristallisé en aiguilles blanches de point de fusion peu net (bloc MAQUENNE vers 250°, au microscope à point de fusion de REICHERT : 215° à 220°). A la différence des substances I et II, elle n'est pas fluorescente et ne se colore pas par les alcalis ni par le perchlorure de fer. Son amertume disparaît en milieu alcalin, il pourrait s'agir d'une lactone.

Par ailleurs, du mannitol a été séparé à l'état cristallisé des extraits acétonique et alcoolique des écorces.

Quelques essais physiologiques ont été effectués sur les écorces de *Coutarea* et le coutaréoside dont la toxicité chez la Souris est faible (la dose de 5 g/kg est parfaitement tolérée tant pour la drogue que pour le glucoside).

Nous nous sommes particulièrement attachée à la recherche des propriétés hypoglycémiantes. Par voie buccale, à la dose de 2,5 g/kg, les écorces de *Coutarea latiflora* n'ont pas d'action sensible sur la glycémie normale du Lapin. Par contre, sur l'hyperglycémie provoquée par administration de glucose par voie orale ou intraveineuse, la drogue à la même dose et le coutaréoside à la dose de 0,01 g/kg, ont une action sensible. La glycémie est abaissée de 15 à 20 p. 100.

D'autre part, la drogue totale et le coutaréoside possèdent un léger pouvoir hypothermisant chez le Lapin en hyperthermie expérimentale, pouvant justifier en partie la réputation ancienne du *Coutarea* comme fébrifuge.

Quelques recherches ont été effectuées sur le *Croton niveus*, Jacq. (« Copalchi blanco »), Euphorbiacée, dont les écorces sont nettement différentes par leurs caractères organoleptiques de celles du *Coutarea latiflora* (saveur non amère, odeur et saveur térébenthinées). Au point de vue anatomique, ces écorces sont distinctes de celles du *Coutarea* par la présence de laticifères, de nombreuses macles d'oxalate de calcium dans le parenchyme cortical et les rayons médullaires, de fibres libériennes et péri-cycliques à lumen étroit. Quelques caractères anatomiques (moindre abondance des cellules à oléorésine, cônes libériens plus effilés) distinguent les écorces de *Croton niveus* de celles de Cascarille (*Croton eluteria*, Benn.) avec lesquelles elles peuvent être confondues.

Un lot peu important d'écorces et de feuilles de *Croton niveus* provenant du Mexique nous a permis quelques essais chimiques et physiologiques.

Les écorces renferment une petite quantité d'huile essentielle, des traces de substances précipitant avec les réactifs généraux des alcaloïdes et des dérivés flavoniques obtenus dans

l'extrait acétate d'éthyle. Après hydrolyse a été isolé à l'état cristallisé un flavonol; celui-ci, par son point de fusion instantané (bloc MAQUENNE) : 320°, son spectre ultra-violet et son Rf en chromatographie, a été identifié au quercétol, qui, dans la plante, semble exister à l'état de rutoside.

Au point de vue physiologique, les écorces de *Croton niveus* ne sont pas toxiques pour la Souris (dose tolérée : 10 g/kg). Chez le Lapin, elles provoquent par voie orale à la dose de 2,5 g/kg des phénomènes de paralysie du train postérieur, mais n'ont aucune action sur la glycémie normale ou l'hyperglycémie provoquée. A la dose de 1 g/kg par voie sous-cutanée chez le même animal, elles ont montré un léger pouvoir hypothermisant.

Enfin, nous n'avons pu effectuer qu'un examen réduit des écorces d'*Exostemma caribaeum*, Roem. et Schult. (Quinquina des Caraïbes ou Copalchi de Michoacan), assez proches au point de vue morphologique de celles du *Coutarea latiflora*. Elles s'en distinguent anatomiquement par les caractères des fibres libériennes et des cristaux d'oxalate de calcium. Ces écorces semblent renfermer, d'après l'examen en chromatographie sur papier, des substances coumariniques analogues à celles du *Coutarea latiflora*.

Au terme de ce travail, nous n'avons certes pas résolu tous les problèmes posés par les Copalchis. Seules, les écorces de *Coutarea latiflora* ont pu faire l'objet d'une étude assez approfondie, et un glucoside nouveau, cristallisé, a été séparé : le coutaréoside dont la génine semble appartenir aux dérivés coumariniques. En possession de matières premières suffisantes, il serait intéressant d'étudier comparativement les écorces d'*Exostemma caribaeum* dont la constitution chimique semble voisine.

Enfin, en ce qui concerne le *Croton niveus*, nous avons surtout mis en évidence les différences avec le *Coutarea latiflora* au triple point de vue botanique, chimique et physiologique. En effet, si le *Coutarea latiflora* présente une action sensible sur l'hyperglycémie provoquée par le glucose chez le Lapin, il n'en est pas de même du *Croton niveus*, qui ne peut donc être employé au même titre comme hypoglycémiant.

Nous espérons que ce travail, bien qu'incomplet, apporte une contribution utile à la connaissance des Copalchis.

Vu, le Doyen :
G. VALETTE.

Vu, le Président :
R. PARIS.

Vu, et permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
J. ROCHE.

BIBLIOGRAPHIE

1. AREVALO (R.). — Estudio sobre la corteza del Copalchi. *Thèse*, Mexico, 1887.
2. ARMENDARIS (E.). — *Anales del Instituto Medico Nacional*, Mexico, 1904, 6, 134.
3. AUBLET (F. de). — Histoire des plantes de la Guiane française, Paris, 1775, 1, 314.
4. BAILEY (L.-H.). — *Exostemma*, in *The standard cyclopedia of horticulture*, New York, 1950, 1, 1195.
5. BAILLON (H.). — Histoire des plantes, Paris, 1867-1895, VII, 511.
6. BENTHAM (G.) et HOOKER (J. D.). — *Genera Plantarum*, Londres, 1873-1876, II, 42.
7. BERGEN (H. von) et SANTEN (H.-L. von). — Über die Copaltschi Rinde, in GERSON (G.-H.) et JULIUS (N.-H.). — *Magazin der ausländischen Literatur der gesammten Heilkunde, und Arbeiten des Aerztlichen Vereins zu Hamburg*. 1827, 14, 360.
- 7 bis. BONNET (J.-L.). — Application de la chromatographie sur papier à l'étude de divers Champignons. *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1959, 82.
8. BRANDES (R.). — Ueber die Copalcke, eine neue mexicanische Fieherrinde, *Archiv. des Apothekervereins im nördlichen Deutschland*, 1826, 17, 197; 1826, 19, 80; 1829, 25, 1.
9. BULLOCK (A.-A.). — *Hooker's Icones Plantarum*, Londres, 1935, 23, t. 3295.
10. CANDOLLE (A.-P. de). — *Coutarea latiflora*. *Prodromus*, Paris, 1830, IV, 350.
11. CANDOLLE (A.-P. de). — *Exostemma*. *Prodromus*, Paris, 1830, IV, 359.
12. CANDOLLE (Alphonse de). — Calq. Dess. Flora Mexicana Moc. et Sessé, Genève, 1874, t. 458.

- 12 bis. DANIELL (F.-W.). — On the Cascarilla and other species of Croton of the Bahama and India Islands. *Pharm. Journ.*, 1862, 4, 144.
13. DELAVEAU (P.). — Nouvelles possibilités des plantes médicinales. *Produits pharmaceutiques*, 1960, 15, 483.
- 13 bis. ENDLICHER (S.). — *Genera Plantarum*, Vienne, 1836-1840, 1, 557.
14. ENGLER (A.) et PRANTL (K.). — Die natürlichen Pflanzenfamilien, Leipzig, 1897, IV, 4, 43.
15. ENGLER (A.) et PRANTL (K.). — Die natürlichen Pflanzenfamilien, Leipzig, 1897, IV, 4, 54.
16. FLÜCKIGER (F.-A.). — Cortex copalchi, in *Lehrbuch der Pharmakognosie des Pflanzenreiches*, Berlin, 1867, 438.
17. GOEBEL (F.) et KUNZE (G.). — Cortex copalchi s. Copalcke. *Pharmaceutische Waarenkunde*, 1827, 1, 217, t. 26.
18. GERTH VAN WIJK (H.-L.). — A Dictionary of Plantnames, La Haye, 1911, 1, 1306.
19. GEYER (H.). — Zur Chemie der Rinde von *Coutarea latiflora*, D.C., *Thèse*, Stuttgart, 1955.
20. GUERRA (F.). — *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades tropicales*, Mexico, 1947, 8, 29.
21. GUIBOURT (G.). — Histoire naturelle des drogues simples, Paris, 1840, II, 367.
22. HARTWICH (C.). — Ueber einige falsche Chinarinden. *Arch. Pharm.*, 1898, 236, 650.
23. HAYNE (F.-G.). — Getreue Darstellung und Beschreibung der in der Arzneykunde gebräuchlichen Gewächse, Berlin, 1821, 7, t. 44.
24. HAYNE (F.-G.). — Getreue Darstellung und Beschreibung der in der Arzneykunde gebräuchlichen Gewächse, Berlin, 1843, 14, t. 2.
25. HECKEL (E.). — Sur la présence et la nature des cystolithes dans le genre *Exostemma* (Rubiaceées). *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 1888, 35, 400.
26. HENKEL (J.-B.). — Mittheilungen über eine Suite mexicanischer Drogen. *Neues Jahrbuch f. Pharm.*, 1868, 29, 18.
27. HOWARD (J.-E.). — On Copalche bark. *Pharm. Journ.*, 1855, 14, 319.
28. HUMBOLDT (F.-A. von), et BONPLAND (A.). — *Plantae aequinoctiales*, Paris, 1808, 1, 131.
29. HUMBOLDT (F.-A. von), BONPLAND (A.) et KUNTH (C.-S.). — *Nova Genera et Species Plantarum*, Paris, 1817, II, 68.

30. ILLIS (W.). — Die pflanzlichen Volksheilmittel von Curaçao, *Pharmazeutische Monatshefte*, 1929, 10, 7.
31. JACQUIN (N.-J.). — *Enumeratio systematica Plantarum*, Vienne, 1760, 32.
32. JACQUIN (N.-J.). — *Selectarum stirpium americanarum historia*, Vienne, 1763, 61, t. 179, fig. 95.
33. JACQUIN (N.-J.). — *Selectarum stirpium americanarum historia*, 1763, 63, t. 182, fig. 20.
34. JACQUIN (N.-J.). — *Selectarum stirpium americanarum historia*, Vienne, 1763, 255, t. 162, fig. 2.
35. JACQUIN (N.-J.). — *Observationum botanicarum*, Vienne, 1764, II, 27.
36. JUSSIEU (A.-L. de). — *Genera Plantarum*, Paris, 1789, 202.
- 36 bis. JUSSIEU (A.-L. de). — *Mémoires du Muséum d'Histoire Naturelle*, Paris, 1820, VI, 388.
37. KAISER (H.) et GEYER (H.). — Zur Pharmakognosie der Copalchi Rinden. *Arch. der Pharm.*, 1955, 288-60, 253-271.
38. KAISER (H.) et GEYER (H.). — Zur Chemie der Rinde von *Coutarea latiflora*, D.C. *Arch. der Pharm.*, 1955, 288-60, 533-534.
39. KAISER (H.) et GEYER (H.). — Zur Pharmakologie der Rinde von *Coutarea latiflora*, D.C. *Arch. der Pharm.*, 1955, 288-60, 595-608.
40. KREBS (K.-G.) et GRIESINGER (E.). — Inhaltsstoffe der Rinde von *Exostema caribaeum*. *Arzneimittel-Forschung*, 1960, 10, 32-33.
41. LANDA (E.). — *Anales del Instituto Medico Nacional*, Mexico, 1913, 12, 4, 146.
42. LEANDRI (J.). — Les Crotons de Madagascar et des îles voisines. *Annales du Musée colonial de Marseille*, 1939, 7, sér. 5, 10.
43. LEMESLE (R.) et LAFAYE (R.). — Contribution à l'étude anatomique et microchimique de l'*Exostemma floribundum*, Roem. et Schult., Quinquina Piton. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1943, 81, 88-97.
44. LICHINGER (F.). — Die officinellen *Croton* und *Diosmeen*-rinden der Sammlung des Dorpater pharmaceutischen Institutes, Dorpates. *Inaugural Dissertation*, 1889, 20.
45. LINNE (C. von). — *Genera Plantarum*, édition I, 1737, 288.
46. LOUSTALOT (A.-J.) et DAGAN (C.). — Fed. Exp. St. Puerto Rico. *U.S. Depart. Agric. Report*, 1947, 29.
47. MAISCH (J.-M.). — *Materia Medica of the new Mexican Pharmacopeia*. *The American Journal of Pharmacy*, 1885, 57, 433.
48. MARTINEZ (M.). — *Las Plantas medicinales de Mexico*, Mexico, 1944, 84.

49. MARTINEZ del CAMPO (J.). — Corteza de Jojutla (*Coutarea latiflora*.) *An. Inst. Med. Nac. Mexico*, 1904, **6**, 54-55.
50. MARTINEZ del CAMPO (J.). — *Exostema caribaeum*. *An. Inst. Med. Nac. Mexico*, 1906, **8**, 332-333.
51. MAZUREK (I. von). — Die Wertbestimmung der Saponindrogen im. D.A.B.V. *Die Pharmazie*, 1954, **4**, 310-325.
52. MAUCH (F.). — Chemische Untersuchung der Copalche Rinde. *Vierteljahresschrift für praktische Pharmacie*, 1869, **18**, 161.
53. MENDES (A.), d'après SOUBEIRAN et DELONDRE. — *Journ. Pharm. et Chim.*, 1868, ser. 4, **8**, 296.
54. METCALFE (C.-R.) et CHALK (L.). — *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford, 1950, II, 1207-1235.
55. MERCADIEU (M.). — Analyse d'une écorce apportée du Mexique, et connue dans le pays sous le nom de Copalchi. *Journ. Chim. médicale, Pharm., Toxicol.*, 1825, **1**, cah. VI, 236.
56. MOCINO (J.-M.) et SESSE (M.). — *Flora Mexicana*, Mexico, 2^{me} édition, 1894, 56.
57. NEES von ESENBECK (Th. F.-L.). — *Plantae Medicinales*, Dusseldorf, 1833, 22-23
58. ORG. MOND. SANTE. — Pyrogènes. *Ser. Rapp. techn.*, 1958, **147**, 11.
59. PARIS (R.) et POINTET (M.). — Sur une drogue antillaise réputée fébrifuge : le Quinquina Piton, *Exostemma floribundum* R. et Schultes (Rubiacees). *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11**, 81. 81.
60. PARIS (R.) et MOYSE (Mme H.). — Les Pervenches indigènes et exotiques. *Journ. Agric. tropic. Bot. appl.*, 1958, **5**, 35.
61. PARIS (R.) et PEREZ (C.). — Sur une nouvelle plante hypoglycémiante, le *Zygophyllum cornutum*, Cosson, *Ann. pharm. franç.*, 1958, **16**, 86.
62. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Electrophorèse des alcaloïdes. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 1959, **14**, 15.
63. PARIS (R.). — Progrès récents dans le contrôle des médicaments végétaux par chromatographie et électrophorèse sur papier. *Mises au point de Chimie Analytique*, Paris, 1961, 9^{me} série, 182-199.
- 63 bis. PARTRIDGE (S.-M.). — Filter paper partition chromatography of sugars. *Biochem. Journ.*, 1948, **42**, 238-249.
64. PELLETIER (J.) et CAVENTOU (J.-B.). — Sur le Quinquina de Sainte Lucie (Kina piton), *Exostemma floribunda*. *Journ. Pharm.*, Paris, 1821, **7**, 114-118.
65. PEREIRA (J.). — *The Elements of Materia Medica and Therapeutics*, Londres, 1855, vol. II, part. 1, 415.

66. PERSOON (C.-H.). — *Synopsis Plantarum*, Paris, 1805, **1**, 197.
67. PHARMACOPEA MEXICANA. — 5^{me} édition, 1925, 172, 219, 220.
68. PLANCHON (G.) et COLLIN (E.). — Les drogues simples d'origine végétale, Paris, 1896, II, 155.
69. ROEMER (J.-J.) et SCHULTES (J.-A.). — *Systema Vegetabilium* Linné, Stuttgart, 1819, V, 18.
70. SCHIEDE (C.-J.-W.). — Botanische Berichte aus Mexico. *Linnaea*, 1830, **5**, 84.
- 70 bis. SCHLECHTENDAL (D. de) et CHAMISSE (A.-D. de). — *Linnaea*, 1830, **5**, 84.
71. SOUBEIRAN (J.-L.) et DELONDRE (A.). — La Matière médicale à l'Exposition universelle de 1867. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1868, **8**, 296.
72. STANDLEY (P.-C.). — North American Flora, 1921, **32**, 127. Trees and shrubs of Mexico, *Contributions from the U.S. National Herbarium*, 1923, **23**, part. 3, 613. *Id.* 1926, **23**, part. 5, 1367.
73. STARK (J.). — Notice of the Copalchi bark. *Pharm. Journ. and Trans.*, 1849-1850, **9**, 463.
74. SWAIN (T.). — Identification des coumarines en chromatographie sur papier. *Biochem. Journ.*, 1953, **53**, 200.
75. TERRES (J.). — *Anales del Instituto Medico Nacional*, Mexico, 1913, **19** (3), 109-118.
76. VILLASENOR (F.). — *Anales del Instituto Medico Nacional*, Mexico, 1903, **6** (1), 194.
77. VILLASENOR (F.). — *Anales del Instituto Medico Nacional*, Mexico, 1904, **6** (2), 26.



